

**Synthese und Identifizierung von Inhaltsstoffen  
aus dem Cloacaldrüsensekret  
der Brückenechse**

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina  
zu Braunschweig  
zur Erlangung des Grades einer  
Doktorin der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)  
genehmigte  
D i s s e r t a t i o n

von Birte Flachsbarth  
aus Braunschweig

1. Referent: Professor Dr. Stefan Schulz

2. Referent: Professor Dr. Thomas Lindel

eingereicht am: 08.06.2009

mündliche Prüfung (Disputation) am: 13.08.2009

Druckjahr 2009

## **Vorveröffentlichungen der Dissertation**

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

### **Publikationen**

P. J. Weldon, B. Flachsbarth, S. Schulz, Natural products from the integument of nonavian reptiles, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, 25, 738 – 756.

B. Flachsbarth, M. Fritzsche, P. J. Weldon, S. Schulz, Composition of the Cloacal Gland Secretion of Tuatara, *Sphenodon punctatus*, *Chemistry & Biodiversity* **2009**, 6, 1 – 37.



# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
1.1	Chemische Kommunikation.....	1
1.2	Triacylglyceride und Fettsäuren.....	3
1.3	Die Brückenechse (Tuatara).....	6
1.4	Vorhergehende Arbeiten .....	9
2	Aufgabenstellung.....	13
3	Naturproben.....	14
4	Untersuchung der Fettsäuren.....	16
4.1	Aufklärung der Struktur und der Konfiguration der Doppelbindungen.....	16
4.1.1	Octadiensäure .....	16
4.1.2	Decadiensäure.....	25
4.1.3	GC/IR-Untersuchungen .....	28
4.1.4	2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure.....	30
4.2	Aufklärung der Stereochemie der methylverzweigten Fettsäuren .....	32
4.2.1	2,6-Dimethyl-5-heptensäure .....	32
4.2.2	2,6-Dimethylheptansäure.....	34
4.2.3	3,7-Dimethyl-6-octensäure .....	35
4.2.4	4,8-Dimethyl-7-nonensäure .....	37
4.2.5	2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure.....	38
4.2.6	2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure .....	42
4.3	Derivatisierungen mit Dimethyldisulfid (DMDS) .....	47
4.4	Biosynthetische Überlegungen.....	54
4.5	Fettsäurezusammensetzung der untersuchten Sekretproben.....	58
4.6	Natürliches Vorkommen der Tuatara-Fettsäuren.....	61
5	Untersuchung der Triacylglyceride .....	62
5.1	Chromatographische Trennung eines Gemischs von Triacylglyceriden.....	66
5.1.1	Gaschromatographie (GC).....	67
5.1.2	Reversed phase Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC).....	68
5.1.3	Silberionen-Chromatographie .....	73
5.2	Massenspektrometrie.....	78
5.2.1	Elektronenstoß-Ionisation (EI-MS) .....	78
5.2.2	Chemische Ionisation (CI-MS).....	79

5.2.3	Elektrospray-Ionisation (ESI-MS)	82
5.3	Regio- und stereospezifische Analyse der Triacylglyceride	90
5.4	Untersuchung der Naturproben	95
5.5	Biosynthetische Überlegungen	107
6	Zusammenfassung	109
7	Experimenteller Teil	115
7.1	Allgemeines	115
7.2	Derivatisierung von Naturproben	118
7.2.1	Darstellung der Fettsäuremethylester	118
7.2.2	Verseifung der Triglyceride	118
7.2.3	Silylierung von Alkoholen und Säuren	118
7.2.4	DMDS-Derivatisierung	119
7.3	Allgemeine Arbeitsvorschriften	120
7.3.1	Monodecarboxylierung	120
7.3.2	Veresterung mit Diazomethan	120
7.3.3	Synthese von Oct-6-en-4-insäuremethylestern	120
7.3.4	Hydrierung mit P-2 Nickel	121
7.3.5	Oxidation mit Silberoxid	121
7.3.6	Hydrierung mit Palladium / Aktivkohle	122
7.3.7	Verseifung von Methylestern mit Natronlauge	122
7.3.8	Bromierung mit Triphenylphosphin und Brom	122
7.3.9	Enantioselektive Methylierung	123
7.3.10	Synthese von 6,10-Dimethyl-9-undecensäuremethylestern	124
7.3.11	Gezielte Synthesen von Triacylglyceriden	125
7.3.12	Statistische Synthesen von Triacylglyceriden	127
7.3.13	Triacylglycerid-Spaltung mit Ethylmagnesiumbromid	127
7.4	Synthesen der Methylester und Säuren in racemischer Form	128
7.4.1	(4 <i>E</i> ,6 <i>E</i> )-4,6-Octadiensäure ( <b>A</b> )	128
7.4.2	(4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i> )-4,6-Octadiensäuremethylester ( <b>44</b> )	131
7.4.3	(4 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> )-4,6-Octadiensäuremethylester ( <b>45</b> )	133
7.4.4	(4 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> )-4,6-Octadiensäuremethylester ( <b>51</b> )	135
7.4.5	4,6-Decadiensäuremethylester	139
7.4.6	(4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i> )-4,7-Decadiensäuremethylester ( <b>60</b> )	141
7.4.7	2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester ( <b>71</b> )	144

7.4.8	2,6-Dimethylheptansäuremethylester ( <b>73</b> ) .....	145
7.4.9	<i>rac</i> -2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure ( <b>B</b> ) .....	146
7.5	Enantioselektive Synthesen der Methylester und Säuren .....	147
7.5.1	( <i>R</i> )-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester ( <b>72</b> ) .....	147
7.5.2	( <i>R</i> )-2,6-Dimethylheptansäuremethylester ( <b>74</b> ) .....	151
7.5.3	( <i>R</i> )-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester ( <b>78</b> ) .....	151
7.5.4	( <i>S</i> )-4,8-Dimethyl-7-nonensäure ( <b>82</b> ) .....	152
7.5.5	( <i>S</i> )-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester ( <b>97</b> ) .....	155
7.5.6	(2 <i>S</i> ,6 <i>RS</i> )-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure ( <b>111</b> ) .....	167
7.5.7	(2 <i>R</i> ,6 <i>RS</i> )-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure ( <b>112</b> ) .....	172
7.5.8	(2 <i>R</i> ,6 <i>R</i> )-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure ( <b>113</b> ) .....	175
7.6	Gezielte Synthesen der Triacylglyceride .....	180
7.6.1	1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-2,3- <i>O</i> -isopropylidenglycerin .....	180
7.6.2	1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-glycerin .....	181
7.6.3	3- <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin .....	181
7.6.4	3- <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoylglycerin .....	183
7.6.5	1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoylglycerin .....	184
7.6.6	3-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoyl- glycerin ( <b>127</b> ) .....	184
7.6.7	3- <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-2-(2,6-dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl- 6-octenoyl)-glycerin .....	185
7.6.8	2-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin .....	187
7.6.9	2-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-3-octanoyl- glycerin ( <b>128</b> ) .....	187
7.6.10	1-Octanoyl-2,3- <i>O</i> -isopropylidenglycerin .....	188
7.6.11	1-Octanoylglycerin .....	189
7.6.12	3- <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-1-octanoylglycerin .....	190
7.6.13	3- <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-2-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoylglycerin .....	191
7.6.14	2-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoylglycerin .....	192
7.6.15	3-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-2-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoyl- glycerin ( <b>129</b> ) .....	192
7.7	Statistische Synthesen von Triacylglyceriden .....	194
7.7.1	Triacylglycerid-Gemisch 1 .....	194
7.7.2	Triacylglycerid-Gemisch 2 .....	194

7.8	Analytik .....	195
7.8.1	Aufklärung der Konfiguration der Doppelbindungen.....	195
7.8.2	Gaschromatographie (GC) von <b>127</b> , <b>128</b> und <b>129</b> .....	195
7.8.3	Silberionen-HPLC.....	195
7.8.4	Normaldrucksäulenchromatographie im Mikromaßstab an silbernitrat- imprägniertem Kieselgel .....	196
8	Literatur.....	197
9	Anhang.....	203
9.1	2D-NMR der (4Z,6E)- und (4Z,6Z)-Isomere des 4,6-Octadiensäuremethylesters ...	203
9.1.1	(4Z,6E)-4,6-Octadiensäuremethylester ( <b>44</b> ) .....	203
9.1.2	(4Z,6Z)-4,6-Octadiensäuremethylester ( <b>45</b> ).....	204
9.2	Chirale Gaschromatographie .....	205
9.3	DMDS-Derivatisierung der Fettsäuremethylester .....	206
9.4	2D-NMR der Triacylglyceride <b>127</b> , <b>128</b> und <b>129</b> .....	208
9.5	Gaschromatogramme der Naturproben.....	212



## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
abs.	absolutiert
Ar	Aromat
CI	Chemische Ionisation
CID	kollisions-induzierte Dissoziation
COSY	Correlated Spectroscopy
d	Dublett
$\delta$	chemische Verschiebung
DAG	Diacylglycerid
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dest.	destilliert
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMDS	Dimethyldisulfid
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ee	Enantiomerenüberschuss
EI	Elektronenstoß-Ionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
eV	Elektronenvolt
GC	Gaschromatographie
HMBC	Heteronuclear multiple bond correlation
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HSQC	Heteronuclear single quantum coherence
HV	Hochvakuum
<i>J</i>	Kopplungskonstante
konz.	konzentriert
M	molar
$M^+$	Molekülion
m	Multiplett
MAG	Monoacylglycerid
<i>m</i> CPBA	<i>meta</i> -Chlorperbenzoesäure

MS	Massenspektrometrie
MSTFA	<i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -(trimethylsilyl)trifluoracetamid
MTBE	Methyl <i>tert</i> butylether
<i>m/z</i>	Masse pro Elementarladung
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NHMDS	Natriumhexamethyldisilazid
NMR	Kernresonanzspektroskopie
NOESY	Nuclear Overhauser enhancement spectroscopy
PCC	Pyridiniumchlorochromat
PDC	Pyridiniumdichromat
<i>p</i> -TsCl	<i>p</i> -Toluolsulfonsäurechlorid
q	Quartett
quin	Quintett
R <sub>f</sub>	ratio of fronts
s	Singulett
sept	Septett
sext	Sextett
t	Triplett
TBDMSCl	<i>tert</i> Butyldimethylsilylchlorid
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
TMSCl	Trimethylsilylchlorid

## 1 Einleitung

Naturstoffe sind von großer Bedeutung für die belebte Natur. Der Begriff umfasst dabei Verbindungen, die von Tieren, Pflanzen und Mikroorganismen im Rahmen des Sekundär-, im weiteren Sinne auch des Primärstoffwechsels gebildet werden. Naturstoffe verfügen über vielfältige biologische Wirkungen; während die Produkte des Primärstoffwechsels (wie Kohlenhydrate, Proteine, Lipide) für das Überleben des Organismus notwendig sind, ist die genaue Funktion vieler Sekundärmetaboliten (hierzu zählen z. B. Terpene, Steroide und Alkaloide) bisher nicht bekannt. Häufig wird die Produktion der sekundären Stoffwechselprodukte erst durch bestimmte Reize aktiviert, wie Wachstum oder Stress. Die Kenntnis wirksamer natürlicher Verbindungen eröffnet neben einer direkten Nutzung dieser Substanzen die Möglichkeit, durch Abwandlung ihrer Struktur mit Hilfe chemischer oder mikrobieller Methoden zu neuen Wirkstoffen für Arznei- und Pflanzenschutzmittel zu gelangen.<sup>[1]</sup>

### 1.1 Chemische Kommunikation

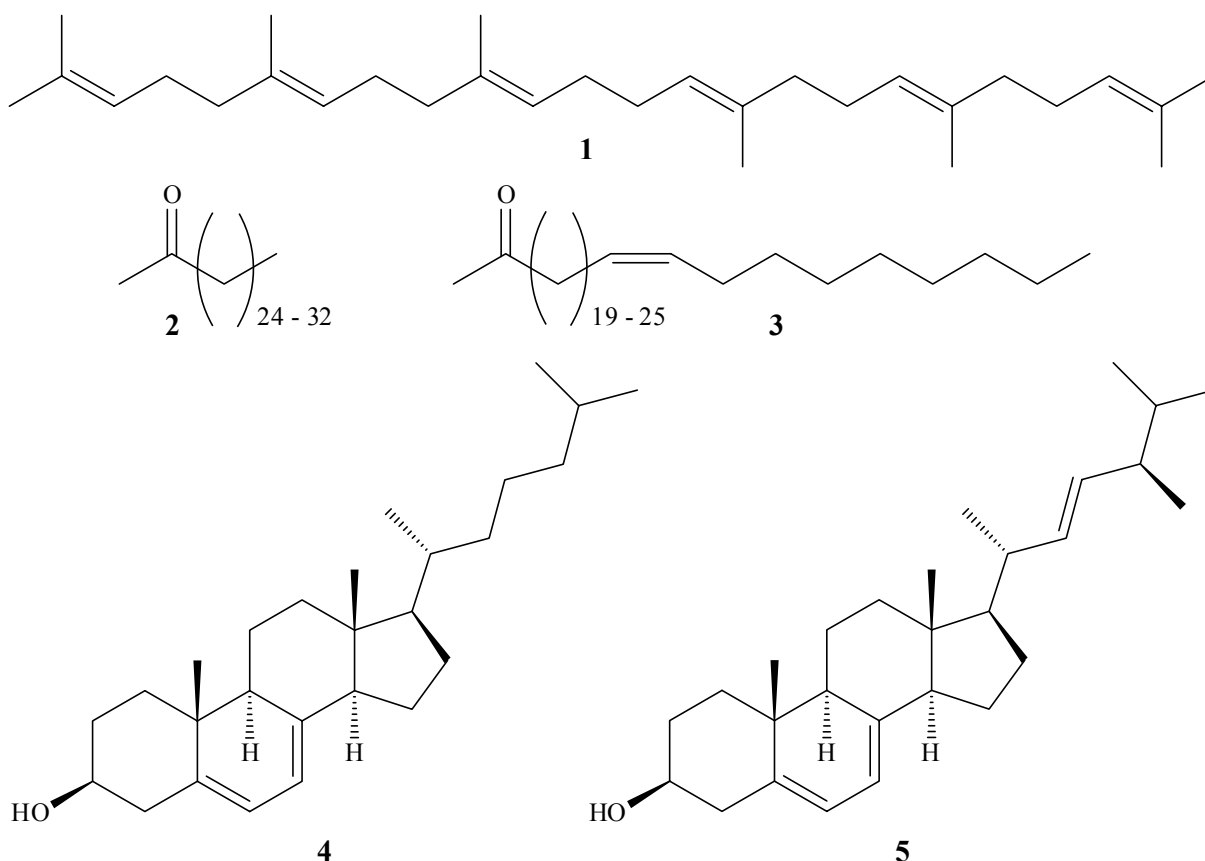
Neben optischen und akustischen Signalen ist die chemische Kommunikation eine wichtige Möglichkeit des Informationsaustauschs nahezu aller Lebewesen. Sie kann zwischen Organismen einer bestimmten Art erfolgen oder auch der Verständigung zwischen verschiedenen Arten dienen. Die dabei verwendeten Signalstoffe werden als Pheromone (altgriech.: pherein = tragen, hormon = antreibend) bei der intraspezifischen bzw. Allomone (altgriech.: allos = ein anderer) bei der artübergreifenden Kommunikation bezeichnet und sind meist schon in sehr geringer Konzentration wirksam. Häufig besteht ein bestimmtes chemisches Signal nicht aus einer einzelnen Substanz, sondern aus einem Gemisch verschiedener Komponenten mit genau definierter Zusammensetzung. Dabei können bestimmte Inhaltsstoffe auch als Trägersubstanz oder zur Stabilisierung anderer Verbindungen dienen. Pheromone umfassen ein breites Spektrum chemischer Strukturen, die auf sehr unterschiedliche Biosynthesewege zurückzuführen sind. Von großer Bedeutung für die Wirksamkeit ist die Chiralität der Moleküle. Häufig ruft nur ein Enantiomer eine Reaktion hervor, in einigen Fällen müssen beide Enantiomere in einem bestimmten Verhältnis zueinander vorliegen oder das „falsche“ Enantiomer hemmt die Wirkung. Ebenso wichtig ist bei ungesättigten Verbindungen das Verhältnis zwischen *cis*- und *trans*-Isomer.<sup>[1]</sup>

Das chemische Signal löst beim Empfänger eine bestimmte Reaktion aus, beispielsweise als Aggregations-, Dispersions-, Alarm-, Spur-, Markierungs- oder aphrodisierend wirkendes Pheromon. Nicht immer ist eine klare Unterscheidung zwischen Pheromonen und „chemischen Waffen“ (Toxinen) oder Wehrstoffen (Repellentien) möglich.<sup>[1]</sup>

Bei der Erforschung der chemischen Kommunikation spielen auch wirtschaftliche Interessen eine Rolle. So ermöglicht das Verständnis derartiger Wechselbeziehungen zwischen Pflanzen und Insekten den Schutz landwirtschaftlicher Produkte vor Schädlingen bei gleichzeitiger Reduktion des Pestizideinsatzes.

Aus dem Insektenreich ist bereits eine Vielzahl von Verbindungen bekannt, die als Pheromone wirken. Im Vergleich hierzu wurden Reptilien bislang nur wenig untersucht. Dies ist auch auf die größere Komplexität dieser Tiere und die damit einhergehenden Schwierigkeiten sowohl bei der Isolierung der potentiell wirksamen Substanzen als auch bei der Durchführung von Biotests zurückzuführen.<sup>[2]</sup> Die meisten bislang veröffentlichten Arbeiten auf diesem Gebiet beschäftigen sich mit Schlangen und Eidechsen. Einige der in der Literatur beschriebenen Reptilienpheromone zeigt **Abb. 1-1**.<sup>[3]</sup>

Squalen (**1**) wurde im Paracloacaldrüsensekret von Spitzkrokodilen (*Crocodylus acutus*) nachgewiesen. Bei geschlechtsreifen weiblichen Tieren macht **1** über 50 % des Sekrets aus, während sein Anteil bei nicht geschlechtsreifen Individuen sowie bei geschlechtsreifen Männchen unter 4 % liegt.<sup>[4]</sup> Die Epidermis weiblicher Rotseitiger Strumpfbandnattern (*Thamnophis sirtalis parietalis*) weist eine Serie gesättigter und einfach ungesättigter Methylketone (**2** und **3**) mit vornehmlich ungerader Anzahl an Kohlenstoffatomen auf. Bioassays zeigten, dass männliche *T. sirtalis parietalis* auf diese Verbindungen reagieren, um potentielle Partner zu erkennen und zu verfolgen. Dabei können sie anhand der Zusammensetzung des Methylketongemischs auf der Hautoberfläche eines Weibchens auf dessen Größe und Abstammung schließen.<sup>[5, 6, 7, 8]</sup> Cholesta-5,7-dien-3-ol (**4**) und Ergosterol (**5**) sind Bestandteile des Femoraldrüsensekrets der Spanischen Gebirgseidechse (*Lacerta monticola cyreni*). Es konnte gezeigt werden, dass sehr gesunde und starke Männchen große Mengen von **4** und **5** im Sekret aufweisen. Beide Verbindungen wirken auf Weibchen anziehend, daher ist davon auszugehen, dass sie eine Rolle bei der Partnerwahl spielen.<sup>[9, 10]</sup>



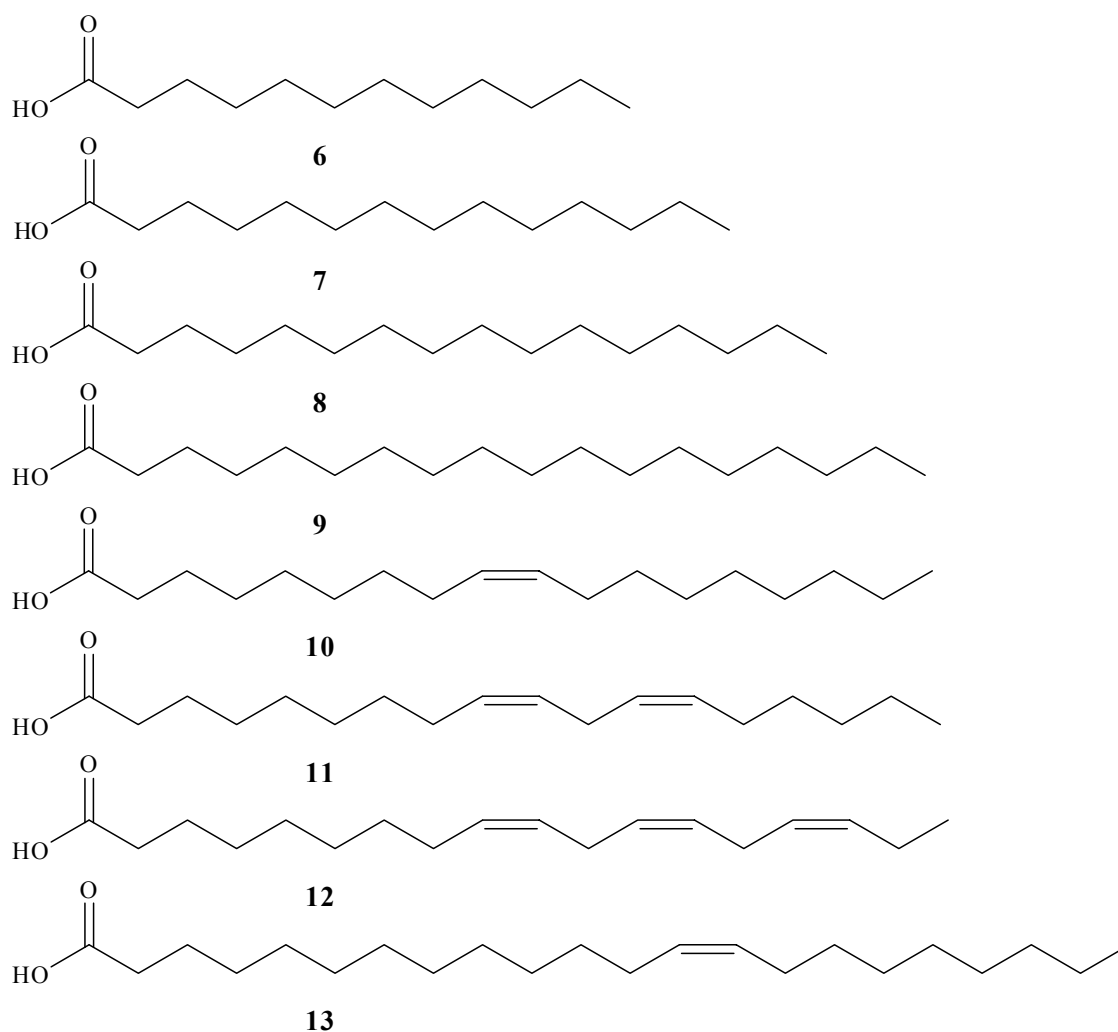
**Abb. 1-1:** Beispiele für literaturbekannte Reptilienpheromone.

## 1.2 Triacylglyceride und Fettsäuren

Triacylglyceride bestehen aus Glycerin, dessen drei Hydroxygruppen mit Fettsäuren verestert sind. Sie dienen im Körper vor allem als Energiespeicher und zur Wärmeisolation und sind ein wichtiger Nährstoff, da sie im Vergleich zu Eiweißen und Kohlenhydraten über die höchste Energiedichte verfügen. Außerdem ermöglichen sie den Transport fettlöslicher Vitamine und stellen einen Lieferanten essentieller ungesättigter Fettsäuren dar. Höhere Organismen sind in der Lage, Triacylglyceride durch Umesterung von durch die Nahrung aufgenommenen Fetten oder aus Kohlenhydraten selber herzustellen. Fette und Öle pflanzlichen Ursprungs bestehen zum Großteil aus gemischten Triacylglyceriden, die zwei oder drei verschiedene höhere Fettsäuren mit gerader Anzahl von Kohlenstoffatomen enthalten; bei Tieren treten auch Säuren mit einer ungeraden Kohlenstoffanzahl auf. Die in pflanzlichen Triacylglyceriden vorhandenen ungesättigten Fettsäuren liegen ausschließlich in *Z*-Konfiguration vor, während tierische Fette und Öle auch *E*-konfigurierte Doppelbindungen aufweisen können. Letztere enthalten zudem in geringen Mengen einfach verzweigte

gesättigte Fettsäuren mit 14 – 18 Kohlenstoffatomen (im Bürzeldrüsenfett der Vögel) sowie die mehrfach verzweigte Phytansäure. Im Allgemeinen ist der Anteil an ungesättigten Fettsäuren in Fetten pflanzlicher Herkunft höher.<sup>[1]</sup>

Fettsäuren werden anhand ihrer Kettenlänge in drei Gruppen unterteilt: Niedere Fettsäuren mit 1 – 7 Kohlenstoffatomen, mittlere mit 8 – 12 Kohlenstoffen und höhere mit mehr als zwölf Kohlenstoffatomen. Sie treten in der Natur sowohl als freie Säuren als auch in Form ihrer Ester auf. In pflanzlichen und tierischen Fetten und Ölen sind Palmitin- (16:0) (**8**), Stearin- (18:0) (**9**) und Ölsäure (9Z-18:1) (**10**) am weitesten verbreitet. Ebenfalls von größerer Bedeutung sind Linol- (9Z,12Z-18:2) (**11**) und Linolensäure (9Z,12Z,15Z-18:3) (**12**) (letztere tritt nur in pflanzlichen Triacylglyceriden auf), außerdem Laurin- (12:0) (**6**) und Myristinsäure (14:0) (**7**) (in Kokos- und Palmkernöl) sowie Erucasäure (13Z-22:1) (**13**, Hauptbestandteil des Rüböls alter Züchtung) (**Abb. 1-2**). Niedere und mittlere Fettsäuren sind in der Milch von Säugetieren enthalten.<sup>[1]</sup>

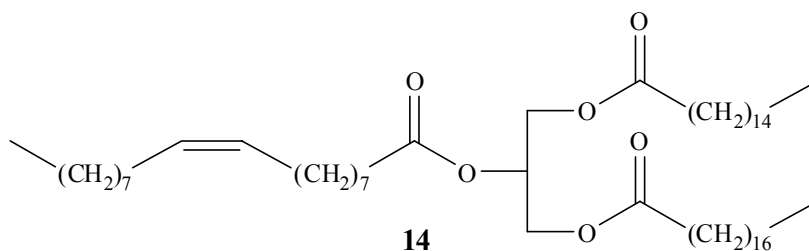


**Abb. 1-2:** Häufig auftretende natürliche Fettsäuren.

Die Zahl  $Z$  der möglichen Triacylglyceride, die aus einer bestimmten Zahl  $n$  von Fettsäuren gebildet werden können, ergibt sich nach folgender Gleichung:

$$Z = \frac{n^3 + n^2}{2} \quad (1-1)$$

Ein Triacylglycerid mit zwei verschiedenen Fettsäuren an den primären Positionen enthält ein Stereozentrum am C-2 des Glycerinrückgrats; die hierdurch hervorgerufene optische Aktivität ist jedoch gering und daher im Allgemeinen nicht messbar. Zur Benennung der Stereochemie wird die stereospezifische Nummerierung verwendet. Dabei wird das Molekül in der Fischerprojektion so dargestellt, dass sich der Acylrest an der sekundären Hydroxyfunktion auf der linken Seite befindet (entspricht dem natürlichen L-Glycerin). Dann wird das obere Kohlenstoffatom des Glycerinrückgrats als C-1 und das untere als C-3 bezeichnet und als Präfix *sn* vor den Namen der Verbindung gestellt (siehe **Abb. 1-3**).<sup>[11]</sup>



**Abb. 1-3:** Fischerprojektion von *sn*-1-Palmitoyl-2-oleoyl-3-stearoylglycerin (**14**).

Die physikalischen Eigenschaften von Triacylglyceriden hängen von der Kettenlänge und der Zahl und Geometrie der Doppelbindungen der einzelnen Fettsäuren sowie von deren Position im Molekül ab. Kürzerkettige Säuren und solche mit einer höheren Anzahl an (insbesondere *Z*-konfigurierten) Doppelbindungen führen aufgrund einer unregelmäßigeren Anordnung der Moleküle im Kristall zu einer Verminderung des Schmelzpunkts.

Frische Fette und Öle sind Neutralfette, das bedeutet, dass alle drei Hydroxygruppen des Glycerins verestert sind; sie sind geruchlos und geschmacksneutral. Bei längerer Einwirkung von Licht und Luft werden durch Lipolyse unter Wasseraufnahme Fettsäuren sowie Mono- und Diglyceride freigesetzt.<sup>[1]</sup>

Um die Zusammensetzung von Fetten und Ölen zu bestimmen, wird meist zunächst eine Umesterung mit Natriummethanolat durchgeführt. Die dabei entstandenen Methylester der Fettsäuren können dann weiter untersucht werden; besonders geeignet hierfür ist die Kopplung von Gaschromatographie mit Massenspektrometrie. Mit Hilfe der regio- und der stereospezifischen Analyse kann zusätzlich die Verteilung der Fettsäuren auf die

Brückenechsen gehören der Klasse der *Sauropsida* an, deren Entwicklung bereits im Paläozoikum (Erdaltertum) begann. Die *Sauropsida* erreichten ihre Blütezeit im Mesozoikum (Erdmittelalter), in der Trias traten sie in der größten morphologischen und systematischen Vielfalt auf. Während Jura und Kreide wurden Erde, Wasser und Luft dann von Dinosauriern dominiert, ihr Aussterben ermöglichte schließlich die Ausbreitung der Säugetiere (*Mammalia*). Aus der Klasse der *Sauropsida* überlebten nur Schildkröten (*Testudines*), Krokodile (*Crocodylia*), Schuppenkriechtiere (*Squamata*) und Brückenechsen (*Sphenodontida*) sowie die von einer Subgruppe der *Dinosauria* abstammenden Vögel (*Aves*) bis ins Tertiär. Anhand von Fossilienfunden kann das Vorkommen der *Sphenodontida* bis zurück in die Trias (vor mehr als 200 Millionen Jahren) belegt werden (**Abb. 1-4**).<sup>[12]</sup>





Das Taxon enthält zwei rezente Arten, *Sphenodon punctatus* und *Sphenodon guntheri*, die aufgrund ihres urtümlichen Körperbaus auch als „lebende Fossilien“ bezeichnet werden. Die taxonomische Einstufung der Brückenechsen sieht wie folgt aus:

Reich: *Animalia* (Tiere)  
Stamm: *Chordata* (Chordatiere)  
Klasse: *Sauropsida* (Sauropsiden)  
Ordnung: *Rhynchocephalia* (Schnabelköpfe)  
Familie: *Sphenodontidae* (Brückenechsen)  
Gattung: *Sphenodon* (Brückenechsen)  
Arten: *Sphenodon punctatus* (Brückenechse)  
*Sphenodon guntheri*

Durch menschliche Eingriffe wie die Jagd und das Einschleppen nicht heimischer Tierarten wie Nagetiere, Katzen und Schweine verkleinerte sich der natürliche Lebensraum der Brückenechsen drastisch. Während sie früher auch auf der nördlichen Hauptinsel Neuseelands anzutreffen waren (ihr Vorkommen auf der Südinsel ist nicht gesichert), leben sie heute nur noch auf etwa 30 kleinen Inseln vor der neuseeländischen Küste in freier Wildbahn.<sup>[12]</sup>



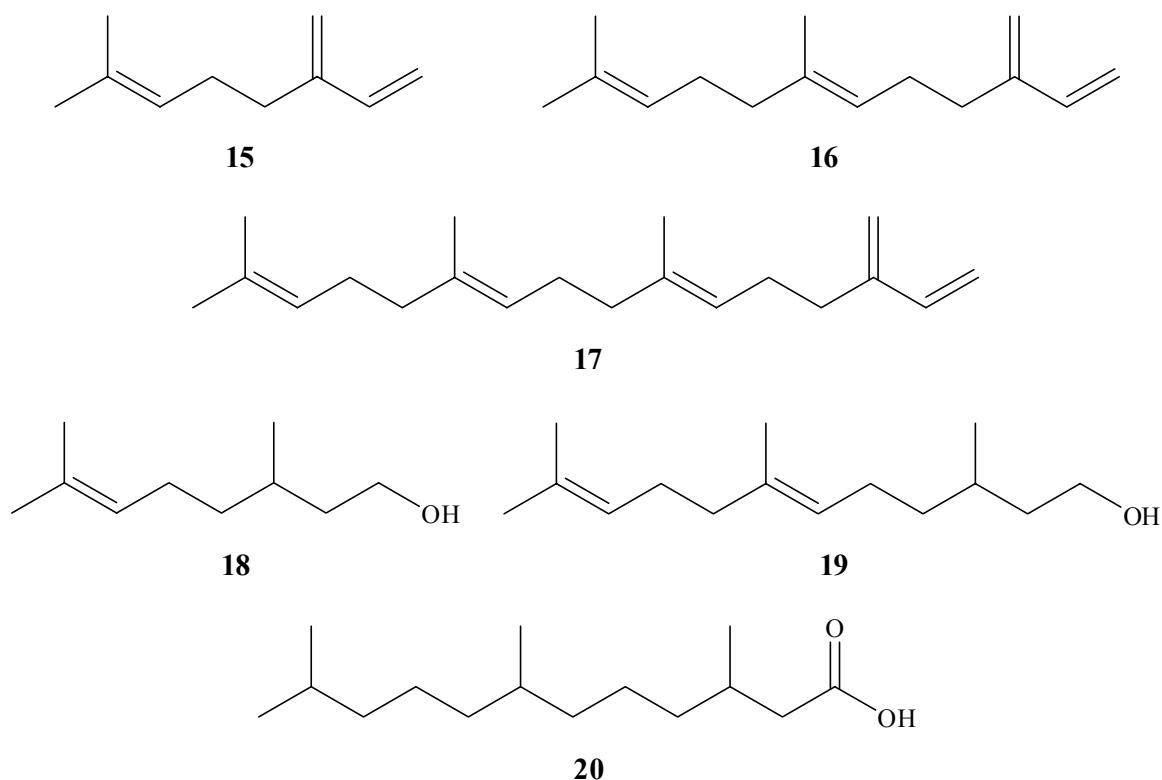
**Abb. 1-5:** Brückenechse (*Sphenodon punctatus*) im St. Louis Zoo, Missouri, USA (Foto von J. Sartore).

Brückenechsen weisen eine durchschnittliche Kopfrumpflänge von 26 cm (Männchen) bzw. 21 cm (Weibchen) und ein Gewicht von 800 – 1000 g bzw. 400 – 500 g auf und verfügen über einige körperbauliche Besonderheiten. Ihren Namen verdanken sie ihrem charakteristischen, ursprünglichen diapsiden Schädel mit einem vollständigen unteren Schläfenbogen („Brücke“) und einem im vorderen Bereich schnabelförmig nach unten gekrümmten Oberkiefer. Mit dem rudimentären Auge (Parietalorgan), das sie unter einer mit Bindegewebe bedeckten Schädelöffnung in der Stirn besitzen, können sie Hell-Dunkel-Unterschiede wahrnehmen. Obwohl die Gehörorgane der Brückenechsen keine äußere Öffnung aufweisen, hören sie gut. Sie sind zudem in der Lage, mit dem Kehlkopf Expirationslaute zu erzeugen, die sowohl zur Verteidigung gegen Artfremde als auch zur innerartlichen Kommunikation dienen. Aufgrund eines aus Stachelschuppen bestehenden Hautkamms entlang von Nacken, Rücken und Schwanz werden die Brückenechsen von den neuseeländischen Ureinwohnern (Maori) als Tuatara („Stachelträger“) bezeichnet.

Da die männlichen Tiere kein Kopulationsorgan besitzen, erfolgt die Übertragung der Samen durch direktes Aufeinanderpressen der Kloakenöffnungen. Neun Monate später legt das Weibchen 8 – 15 Eier mit pergamentartiger Schale, die durch Wasseraufnahme wachsen. Nach einer Entwicklungszeit von 13 Monaten schlüpfen schließlich die Jungtiere. Im Gegensatz zu den Männchen sind die weiblichen Tiere nur alle vier Jahre paarungsbereit. Aufgrund ihres kühlen Lebensraums und ihrer überwiegend nächtlichen Aktivität sind die meisten Verhaltensabläufe und damit einhergehend der Stoffwechsel der Brückenechsen verlangsamt. Ihre bevorzugte Umgebungstemperatur liegt bei 17 – 20°C, was für wechselwarme Tiere ungewöhnlich niedrig ist; ihre Körpertemperatur ist dabei tagsüber oft höher und sinkt nach Sonnenuntergang ab, wobei auch Werte unterhalb der Lufttemperatur erreicht werden können. Unterhalb von 7°C werden die Tiere lethargisch. Brückenechsen wachsen nicht schnell (z. T. bis zum Alter von 50 Jahren), sie werden erst nach etwa 10 bis 20 Jahren geschlechtsreif und haben vermutlich eine Lebenserwartung von über 100 Jahren. Sie leben in selbst gegrabenen oder von Sturmtauchern übernommenen Erdhöhlen, die sie erst in der Dämmerung zur Nahrungsaufnahme verlassen. Zu ihrer Beute zählen vor allem Insekten, Spinnen und Schnecken, gelegentlich auch kleine Echsen und, während der Brutzeit der Sturmvögel, deren Eier und Jungtiere.<sup>[12, 13, 14, 15, 16, 17]</sup>

Die Fettzusammensetzung der Eier ebenso wie die von Lunge, Leber und Fettgewebe von *Sphenodon punctatus* wurde bereits untersucht. Die dort identifizierten Triacylglyceride waren aus bekannten unverzweigten Fettsäuren mit 14 – 22 Kohlenstoffatomen und null bis sechs Doppelbindungen aufgebaut.<sup>[18, 19]</sup>

Die Haut der Sauropsida enthält nur sehr wenige Drüsen. Verschiedene Untersuchungen (u. a. von Femoralorganen bei Echsen, Kloakendrüsen bei Krokodilen und einigen Schlangen) zeigten, dass die Aufgabe dieser Hautdrüsen vermutlich entweder die Produktion von Sexualpheromonen oder die Feindabwehr ist.<sup>[20, 21]</sup> **Abb. 1-6** zeigt Beispiele für Verbindungen, die im Kloakendrüsensekret von Krokodilen gefunden wurden.<sup>[22, 23, 24]</sup> Brückenechsen besitzen Cloacaldrüsen, die sich als gepaartes Organ zu beiden Seiten der Kloakenöffnung befinden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden lipophile Inhaltsstoffe aus dem Sekret dieser Drüsen analysiert.



**Abb. 1-6:** Beispiele für Verbindungen aus dem Kloakendrüsensekret von Krokodilen.

## 1.4 Vorhergehende Arbeiten

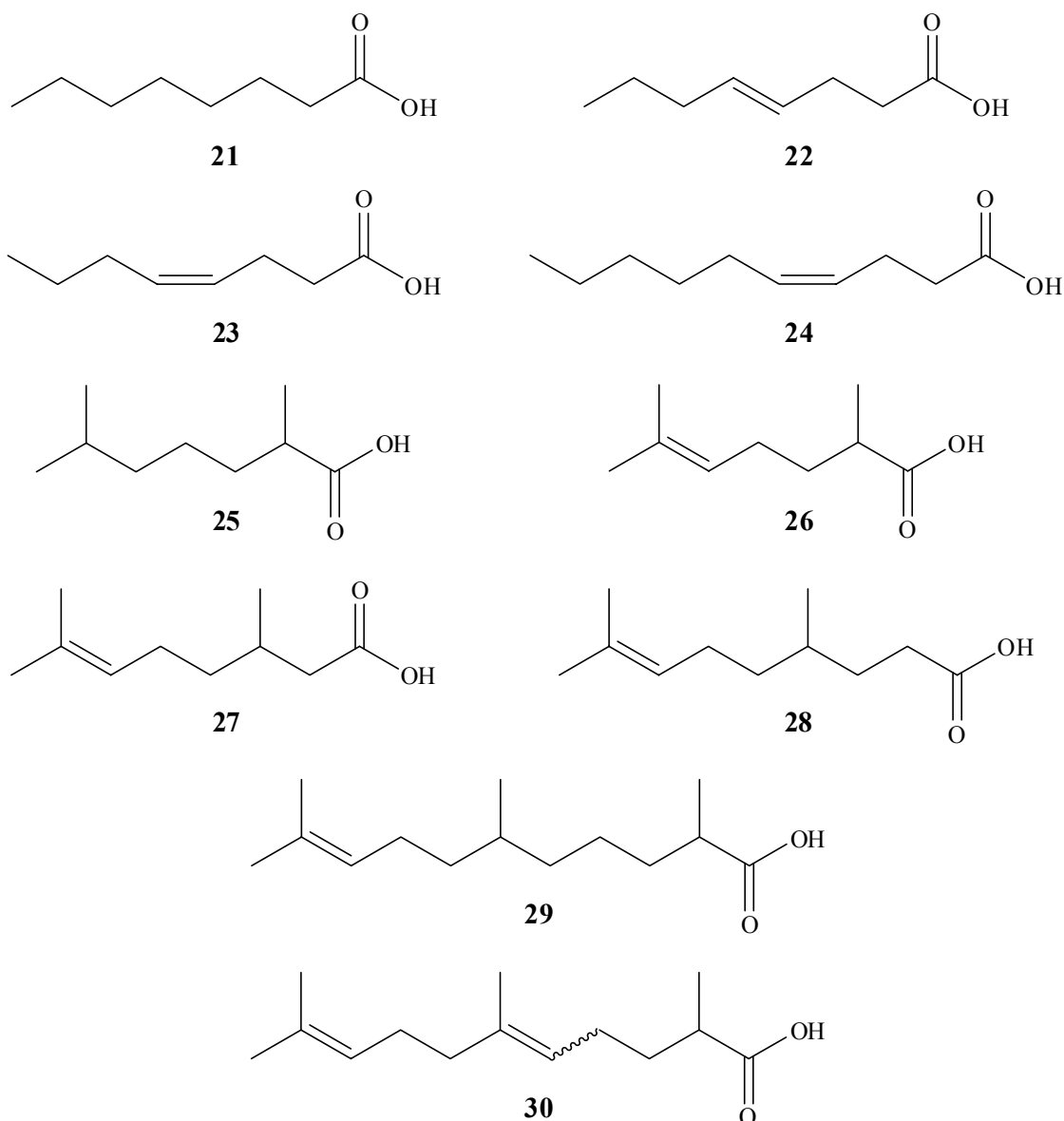
Gelelektrophorese und MALDI-Massenspektrometrie des Cloacaldrüsensekrets von *Sphenodon punctatus* zeigte bereits ein großes Glycoprotein mit einer Molmasse von ca. 50 kDa.<sup>[3]</sup>

Die chemische Zusammensetzung von Dichlormethanextrakten des Sekrets wurde zudem im Rahmen früherer Arbeiten mittels Gaschromatographie, gekoppelt mit EI-Massenspektrometrie (GC/EI-MS), untersucht.<sup>[25, 26]</sup> Die Ergebnisse führten zu der

Vermutung, dass es sich bei den Inhaltsstoffen des Sekrets um Triacylglyceride handelte. Dies konnte durch Umesterung mit Natriummethanolat, anschließende Derivatisierung mit *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoracetamid (MSTFA) und GC/MS-Analyse bestätigt werden; es wurden sechzehn Methylester sowie silyliertes Glycerin gefunden. Vier der Methylester stammen von den häufig vorkommenden Fettsäuren Palmitin- (**8**), Stearin- (**9**), Öl- (**10**) und Linolsäure (**11**) (**Abb. 1-2**). Diese Säuren sind als Bestandteil der Lipide in Lunge, Leber und Fettgewebe sowie in Eiern von *S. punctatus* bekannt, **8**, **10** und **11** sind die am stärksten vertretenen Fettsäuren in beiden Studien,<sup>[18, 19]</sup> daher wurden sie nicht weiter untersucht. Aufgrund der hohen Masse der entsprechenden in der Natur relativ weit verbreiteten Triacylglyceride ( $M > 800$  g/mol) konnten diese nicht im Gaschromatogramm beobachtet werden.

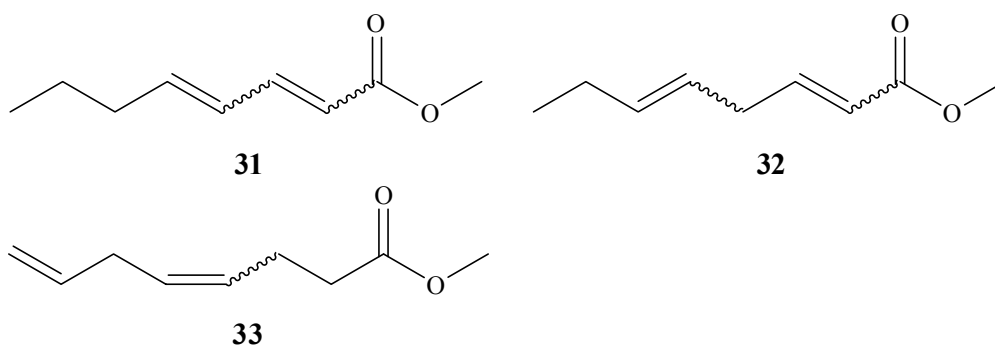
Um ungesättigte Methylester zu identifizieren, wurden die umgeesterten Naturproben hydriert. Dies führte zu vereinfachten Gaschromatogrammen mit einer geringeren Anzahl an Peaks. Es mussten also mehrere Verbindungen mit identischem Kohlenstoffgerüst vorliegen, die sich nur in der Anzahl der Doppelbindungen voneinander unterschieden. Um die Lage der Doppelbindungen zu bestimmen, wurde eine der umgeesterten Naturproben mit Dimethyldisulfid (DMDS) derivatisiert. Die Auswertung der Massenspektren der Derivate lieferte jedoch nur für zwei Verbindungen brauchbare Informationen.<sup>[25]</sup>

Anhand dieser Ergebnisse konnten zehn der zwölf in den Triacylglyceriden vorhandenen ungewöhnlichen Fettsäuren identifiziert und ihre Struktur durch Synthese bewiesen werden (**Abb. 1-7**): Octan- (**21**), (*E*)- (**22**) und (*Z*)-4-Octen- (**23**), (*Z*)-4-Decen- (**24**), 2,6-Dimethylheptan- (**25**), 2,6-Dimethyl-5-hepten- (**26**), 3,7-Dimethyl-6-octen- (Citronell-) (**27**), 4,8-Dimethyl-7-nonen- (**28**), 2,6,10-Trimethyl-9-undecen- (**29**) und 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (**30**).<sup>[25, 26]</sup> Die Konfiguration der Stereozentren in den methylverzweigten Fettsäuren wurde dabei nicht untersucht. Ebenso konnte bei der 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (**30**) die Konfiguration der Doppelbindung zwischen C-5 und C-6 nicht eindeutig aufgeklärt werden.



**Abb. 1-7:** Im Rahmen früherer Arbeiten aufgeklärte Strukturen von in den natürlichen Triacylglyceriden enthaltenen ungewöhnlichen Fettsäuren.

Über die beiden übrigen Säuren konnte lediglich ausgesagt werden, dass es sich um eine Octadiensäure und eine Decadiensäure mit unverzweigter Kohlenstoffkette handeln musste; die Lage der Doppelbindungen war in beiden Fällen unbekannt. Die Synthese der Methylester dreier anhand der massenspektrometrischen Daten und biosynthetischer Überlegungen ausgewählten Isomere der Octadiensäure, 2,4-Octadiensäuremethylester (**31**), 2,5-Octadiensäuremethylester (**32**) und 4,7-Octadiensäuremethylester (**33**) (**Abb. 1-8**), ergab jedoch keine Übereinstimmung mit der gesuchten Verbindung.<sup>[26]</sup>



**Abb. 1-8:** Im Rahmen früherer Arbeiten synthetisierte Octadiensäuremethylester-Isomere.

## 2 Aufgabenstellung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten die vorläufigen Ergebnisse der früheren Studien vervollständigt werden. Die Strukturen der beiden noch unbekannten Säuren, einer Octadien- und einer Decadiensäure mit unverzweigter Kohlenstoffkette, sollten ermittelt und durch Synthese bewiesen werden. Für diese beiden Verbindungen sowie die bereits identifizierte 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (**30**) sollte zudem die Konfiguration der Doppelbindungen aufgeklärt werden. Die Konfiguration der Stereozentren der sechs methylverzweigten Fettsäuren sollte ebenfalls untersucht werden. Zu diesem Zweck sollten enantioselektive Synthesen und gaschromatographische Enantiomerentrennungen an chiralen stationären Phasen durchgeführt werden.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte die Zusammensetzung der im Cloacaldrüsensekret von *S. punctatus* enthaltenen Triacylglyceride untersucht werden. Zu diesem Zweck sollte zunächst eine Trennung der Einzelkomponenten erfolgen. Es standen verschiedene chromatographische Methoden zur Verfügung, neben der Gaschromatographie auch die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und verschiedene Methoden der Silberionen-Chromatographie. Anschließend sollten die erhaltenen Fraktionen massenspektrometrisch analysiert werden. Dabei sollten mehrere Ionisierungsmethoden miteinander verglichen werden, neben der bereits im Rahmen früherer Arbeiten eingesetzten Elektronenstoß-Ionisation (EI) sollten die Chemische (CI) und die Elektrospray-Ionisation (ESI) verwendet werden. Zur Bestimmung der Verteilung der Fettsäuren innerhalb der Triacylglycerid-Moleküle sollte zudem eine Spaltung mit chemischen oder enzymatischen Methoden durchgeführt werden. Abschließend sollte die Sekretzusammensetzung der verschiedenen untersuchten Individuen miteinander verglichen werden.

### 3 Naturproben

Alle untersuchten Proben wurden von in Gefangenschaft lebenden *Sphenodon punctatus* entnommen. Diese befinden sich in drei Tierparks in den USA: im Dallas Zoo, Texas, im St. Louis Zoo, Missouri und im Toledo Zoo, Ohio. Die Tiere sind dort jeweils einzeln oder paarweise untergebracht; ihre Nahrung besteht aus Grillen und Mäusen. Nur die im Dallas Zoo gehaltenen Individuen wurden in Gefangenschaft geboren, alle übrigen wurden auf Stephens Island, Neuseeland, gefangen. Es wurden 5 Männchen, 2 Weibchen und 4 Brückenechsen, deren Geschlecht nicht bekannt war, untersucht. Das Alter der Tiere zum Zeitpunkt der Sekretentnahme variierte im Bereich von 12 – 46 Jahren; bei der Auswertung der Untersuchungsergebnisse wurde davon ausgegangen, dass alle geschlechtsreif waren. Eine Übersicht über die untersuchten Naturproben gibt **Tabelle 3-1**. Die Proben wurden im Mai und November 2002 sowie im Juli 2004 entnommen; drei Individuen wurden mehrfach untersucht.

Das Cloacaldrüsensekret wurde gesammelt, indem mit der Hand Druck auf den Schwanzansatz der Tiere ausgeübt wurde, so dass die Drüsengänge am seitlichen Rand der Kloakenöffnung hervortraten. Weiterer Druck führte zur Absonderung eines weißen Sekrets, das mit der Spitze einer Pipette aufgenommen wurde. Diese wurde anschließend in ein Probengläschen abgebrochen, es wurden einige Milliliter Dichlormethan hinzugefügt und die Probe wurde bis zur Analyse auf Trockeneis bzw. im Gefrierschrank bei  $-78^{\circ}\text{C}$  gelagert.<sup>[27]</sup>



**Abb. 3-1:** Bauchansicht von *S. punctatus*; das weiße Cloacaldrüsensekret, das austritt, nachdem Druck auf den Schwanzansatz ausgeübt wurde, ist deutlich zu erkennen.



**Tabelle 3-1:** Im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Naturproben.

Probennahme	Probe	Geschlecht	Individuum	Geburtsdatum	Geburtsort	Tierpark
Mai 2002	1					
	2	m	Big Guy	1964	Wildnis	St. Louis
	8					
	9					
	3					
	10	m	Gans	1975	Wildnis	St. Louis
	11					
	4	w		3/1989	Gefangenschaft	Dallas
	5	m		5/1985	Gefangenschaft	Dallas
	6	n. b.		n. b.	Gefangenschaft	Dallas
	7	m		12/1987	Gefangenschaft	Dallas
	12	m	Old Man	1958	Wildnis	St. Louis
	13	w	Stumpy	1958	Wildnis	St. Louis
November 2002	14	n. b.	Velma	1990	Wildnis	Toledo
	15	n. b.	Rhubarb	1990	Wildnis	Toledo
	16	n. b.	Daphne	1990	Wildnis	Toledo
Juli 2004	17	m	Gans	1975	Wildnis	St. Louis
	18	m	Old Man	1958	Wildnis	St. Louis
	19	m	Big Guy	1964	Wildnis	St. Louis

## 4 Untersuchung der Fettsäuren

### 4.1 Aufklärung der Struktur und der Konfiguration der Doppelbindungen

In vorhergehenden Untersuchungen wurden die Strukturen von 10 der 12 ungewöhnlichen Fettsäuren aus den in den Naturproben enthaltenen Triacylglyceriden aufgeklärt.<sup>[25, 26]</sup> Die Identifizierung der beiden übrigen Verbindungen, einer Octadiensäure und einer Decadiensäure, war nicht ganz einfach, da nur bekannt war, dass sie eine unverzweigte Kohlenstoffkette besitzen, aber die Lage der Doppelbindungen nicht näher bestimmt werden konnte. Ausgehend von den Ergebnissen der im Rahmen dieser früheren Arbeiten durchgeführten massenspektrometrischen Untersuchungen und Derivatisierungen sowie den Strukturen der bereits bekannten Fettsäuren wurden für die Octadiensäure und die Decadiensäure Strukturhypothesen aufgestellt. Diese Verbindungen wurden synthetisiert und mit den natürlichen Säuren verglichen. Dabei wurden die Synthesestrategien so geplant, dass die Konfiguration der Doppelbindungen vorgegeben war, die Konfiguration vorhandener Stereozentren wurde bei der Synthese zunächst vernachlässigt.

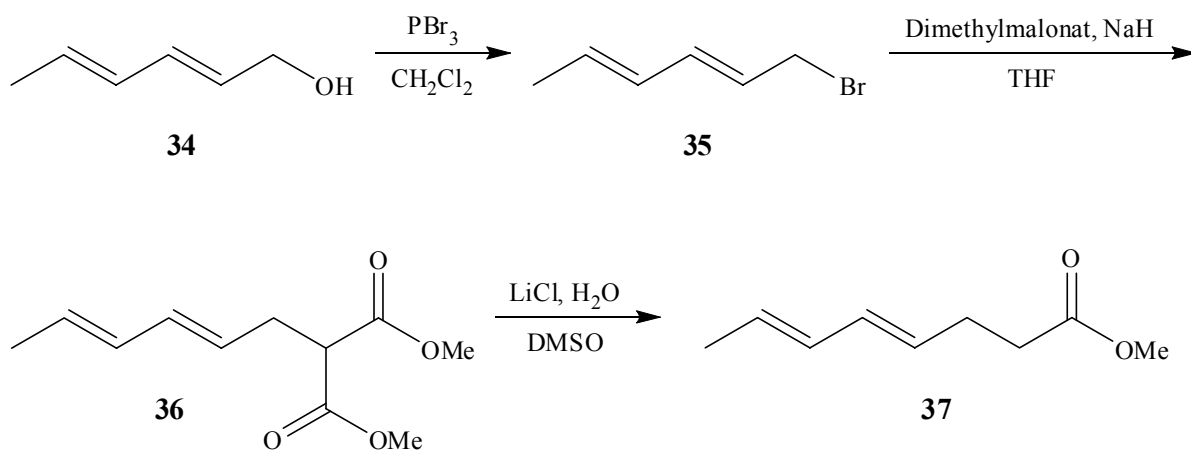
Anschließend wurde die Konfiguration der Doppelbindungen der drei noch nicht vollständig aufgeklärten Carbonsäuren, Octadien-, Decadien- und 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (**30**), durch gaschromatographische Koinjektion der synthetisierten Methylester mit umgeesterten Naturproben an einer unpolaren Phase (HP-5) unter standardisierten Bedingungen bestimmt (s. Kapitel 7.8.1).

#### 4.1.1 Octadiensäure

Zunächst wurde die Octadiensäure betrachtet. In früheren Untersuchungen wurden bereits die Methylester von drei Positionsisomeren (2,4-, 2,5- und 4,7-Octadiensäure) synthetisiert, diese stimmten jedoch alle nicht mit der natürlichen Verbindung überein.<sup>[25, 26]</sup> Es lag nahe, dass die bereits in den Proben nachgewiesenen 4-Octensäuren **22** und **23** und die unbekannte Octadiensäure strukturverwandt sind und dass die stärkere Retention auf das Vorliegen konjugierter Doppelbindungen zurückzuführen ist. Daher wurde als nächstes der 4,6-Octadiensäuremethylester synthetisiert. Das all-*E*-konfigurierte Isomer **37** war das erste Syntheseziel, da es am einfachsten zugänglich war.

Die Synthese ist in **Abb. 4-1** dargestellt. Sie begann mit der Bromierung von (2*E*,4*E*)-2,4-Hexadien-1-ol (**34**) mit Phosphortribromid.<sup>[28]</sup> Anschließend wurde das

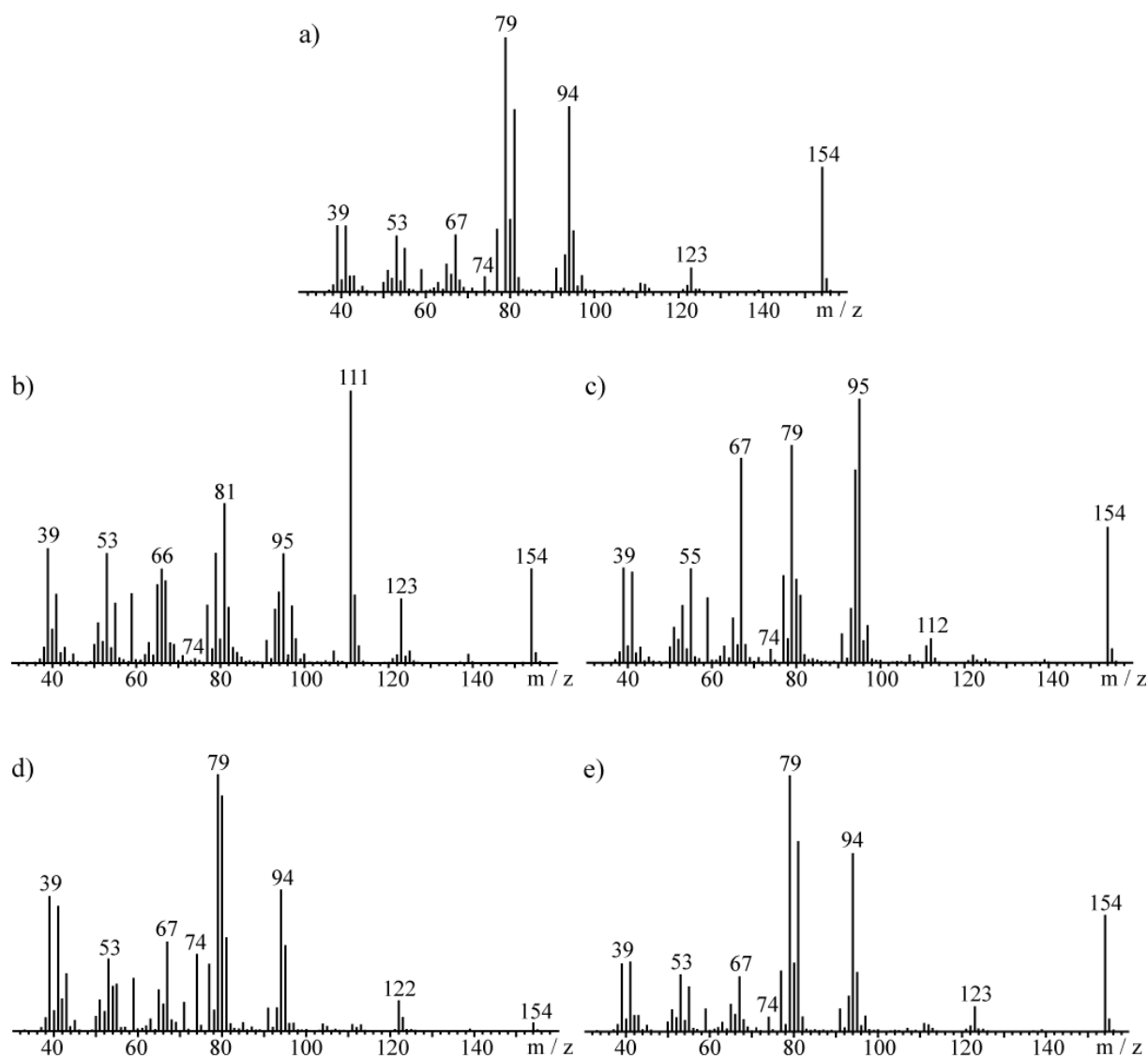
resultierende Bromid **35** mit Dimethylmalonat umgesetzt und das Produkt **36** nach der Methode von KRAPCHO monodecarboxyliert, um (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**) zu erhalten.<sup>[29]</sup>



**Abb. 4-1:** Synthese von (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**).

Das Produkt der Synthese enthielt neben dem gewünschten Isomer auch die (4*Z*,6*E*)-, (4*Z*,6*Z*)- und (4*E*,6*Z*)-Isomere in kleinen Mengen. Ein Vergleich der Massenspektren mit dem der natürlichen Verbindung ergab, dass es sich beim 4,6-Octadiensäuremethylester um das gesuchte Molekül handelte. Über die Konfiguration der Doppelbindungen konnte jedoch nichts ausgesagt werden, weil alle vier Isomere ein nahezu identisches Fragmentierungsmuster zeigten.

**Abb. 4-2** zeigt eine Gegenüberstellung des Massenspektrums der methylierten natürlichen Octadiensäure mit den synthetisierten Verbindungen 2,4-Octadiensäuremethylester (**31**), 2,5-Octadiensäuremethylester (**32**), 4,7-Octadiensäuremethylester (**33**) und (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**).

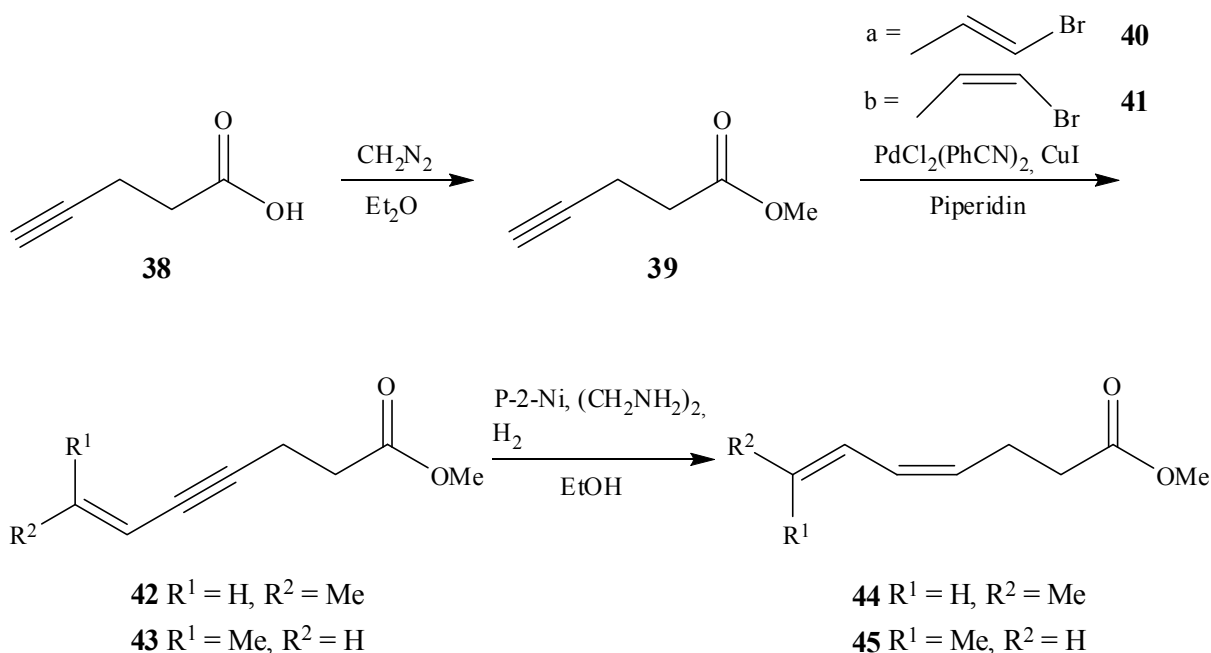


**Abb. 4-2:** Vergleich der Massenspektren des Octadiensäuremethylesters aus der Umesterung einer Naturprobe (Probe 3) und der synthetisierten Octadiensäuremethylester-Isomere. a) Natürliche Verbindung; b) 2,4-Octadiensäuremethylester (**31**); c) 2,5-Octadiensäuremethylester (**32**); d) 4,7-Octadiensäuremethylester (**33**); e) (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**).

Eine Koinjektion von **37** mit einer umgeesterten Naturprobe (Probe 3) ergab, dass es sich bei der natürlich vorkommenden Säure um eines der Nebenprodukte handelte. Daher wurden weitere Synthesen durchgeführt.

Die natürliche 4-Octensäure lag vorwiegend in (*Z*)-Konfiguration vor, deshalb erschien es wahrscheinlich, dass es sich bei der 4,6-Octadiensäure entweder um das (4*Z*,6*E*)- oder das (4*Z*,6*Z*)-Isomer handelte. Beide wurden nach der gleichen Strategie dargestellt (**Abb. 4-3**): Im ersten Schritt wurde 4-Pentinsäure (**38**) mit Diazomethan verestert.<sup>[30]</sup> Der

entstandene Methylester **39** wurde in einer SONOGASHIRA-Reaktion mit (*E*)- bzw. (*Z*)-1-Brom-1-propen (**40** bzw. **41**) gekuppelt.<sup>[31, 32]</sup> Die partielle Hydrierung der Dreifachbindung des Esters **42** bzw. **43** unter Katalyse mit P-2 Nickel lieferte die gewünschten Produkte (4*Z*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**44**) und (4*Z*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**45**).<sup>[33, 34]</sup>



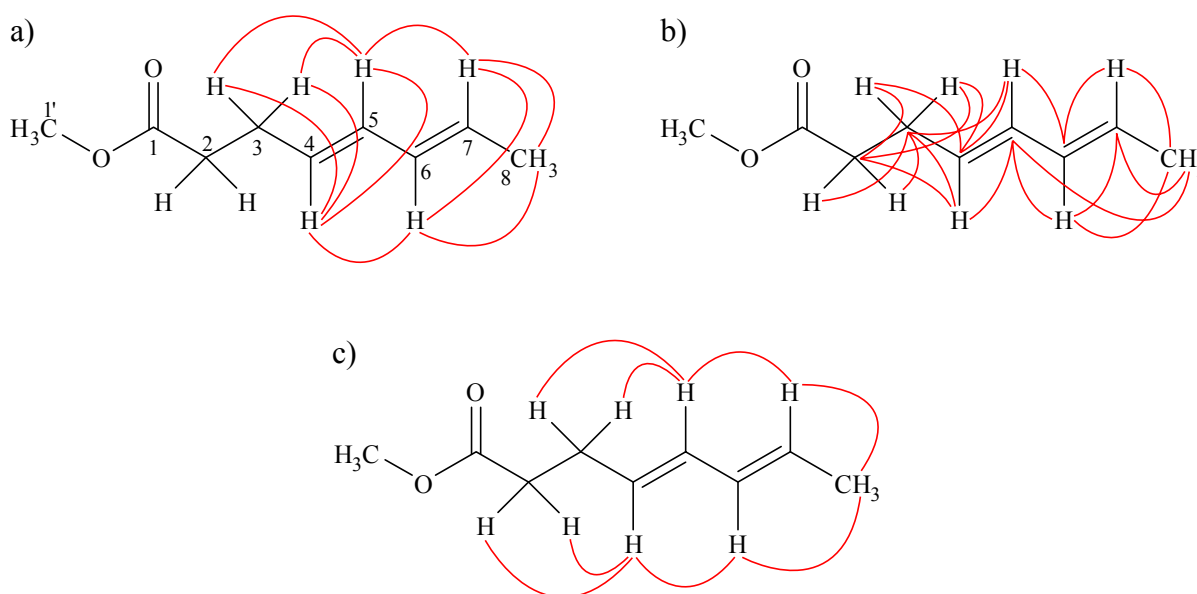
**Abb. 4-3:** Synthese von (4*Z*,6*E*)- und (4*Z*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**44**) und (**45**).

Die Koinjektion der Ester **44** und **45** mit einer umgeesterten Naturprobe (Probe 3) zeigte, dass beide ebenfalls nicht dem gesuchten Molekül entsprachen. Die natürliche Säure musste demnach (4*E*,6*Z*)-konfiguriert sein. Dies konnte durch Synthese des entsprechenden Methylesters **51** gemäß **Abb. 4-4** und eine abschließende Koinjektion (**Abb. 4-5**) bewiesen werden.

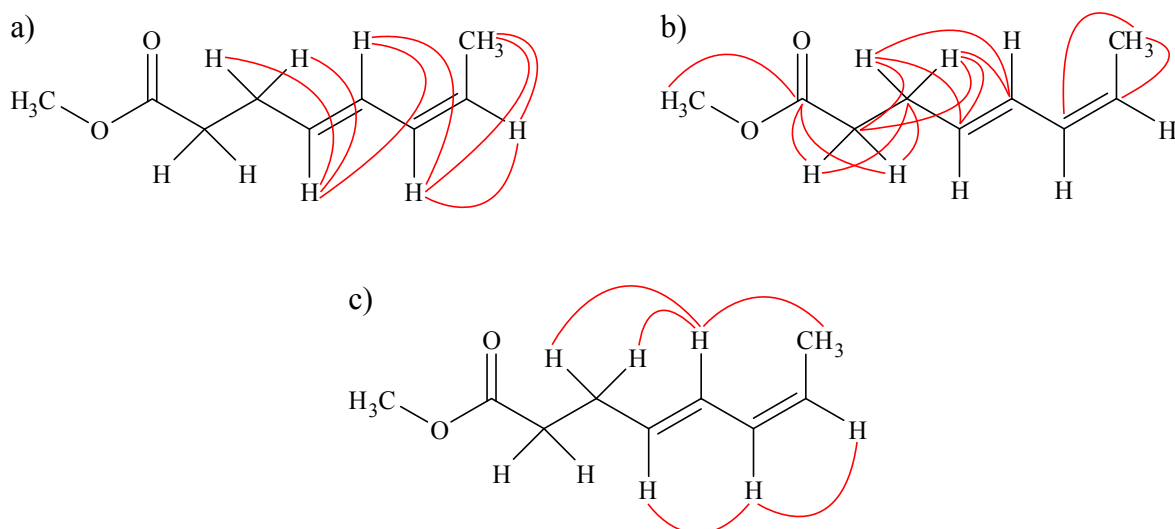
Die Darstellung des (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylesters (**51**) erforderte eine Fünf-Schritt-Synthese ausgehend von 4-Pentin-1-ol (**46**). Zuerst wurde die Hydroxygruppe silyliert.<sup>[35, 36]</sup> Hydroborierung der Dreifachbindung von **47** mit Catecholboran, gefolgt von einer SUZUKI-Kupplung mit (*Z*)-1-Brom-1-propen (**41**), ergab das geschützte Dienol **48**.<sup>[37]</sup> Nach dem Entfernen der Schutzgruppe wurde die Alkoholfunktion mit Pyridiniumdichromat oxidiert.<sup>[36, 37, 38, 39]</sup> Der letzte Schritt war die Veresterung der Säure **50** mit Diazomethan zum Methylester **51**.<sup>[30]</sup>

20

Die Doppelbindungskonfiguration der synthetisierten 4,6-Octadiensäuremethylester wurde jeweils mit Hilfe von NMR-Daten überprüft.<sup>[40, 41]</sup> Neben den eindimensionalen  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - und  $^{13}\text{C}$ -DEPT-Messungen wurden hierzu auch 2D-Experimente ( $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY und HSQC, bei zwei Proben auch  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY und HMBC) durchgeführt. Anhand ihrer chemischen Verschiebungen konnten die Methylprotonen sowie der Carbonyl- und die beiden Methylkohlenstoffe der Isomere in den Spektren eindeutig zugeordnet werden. Die übrigen Gruppen wurden anhand der zweidimensionalen Daten identifiziert. Das HSQC-Spektrum ermöglichte eine Korrelation der Protonen mit den zugehörigen Kohlenstoffatomen über  $^1J$ -Kopplungen, weiter voneinander entfernte Atome wurden über die  $^2J$ - und  $^3J$ -C,H-Kopplungen, selten auch  $^4J$ -C,H-Kopplungen im HMBC miteinander in Verbindung gebracht. Protonen, die durch drei oder vier (in Einzelfällen fünf) Bindungen voneinander getrennt waren, konnten mit Hilfe des  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-Spektrums miteinander verknüpft werden. Anschließend konnte die Konfiguration der Doppelbindungen anhand der Kopplung räumlich benachbarter Protonen im  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY-Spektrum bestimmt werden. Die Resultate der 2D-NMR-Experimente für den zuerst synthetisierten (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**) und den als Naturstoff identifizierten (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**51**) sind in **Abb. 4-6** und **Abb. 4-7** sowie in **Tabelle 4-1** – **Tabelle 4-4** zusammengefasst. Die  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-Daten des (4*Z*,6*E*)- sowie des (4*Z*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylesters (**44** und **45**) sind in **Tabelle 9-1** und **Tabelle 9-2** (im Anhang) aufgeführt.



**Abb. 4-6:** Kopplungen im 2D-NMR von (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**).  
a)  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY; b)  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC; c)  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY.



**Abb. 4-7:** Kopplungen im 2D-NMR von (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**51**). a)  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY; b)  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC; c)  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY.

**Tabelle 4-1:** Kopplungen der  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY- und  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY-Experimente von (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**). C =  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY; N =  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY; Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$ ; chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

			H-5, H-6	H-7	H-4	H-1'	H-2, H-3	H-8
			6.08 – 5.94	5.65 – 5.56	5.55 – 5.47	3.68	2.41 – 2.35	1.73
			m, 2 H	m, 1 H	m, 1 H	s, 3 H	m, 4 H	d, 3 H
H-5, H-6	6.08 – 5.94	m, 2 H		C, N	C, N		C, N	C, N
H-7	5.65 – 5.56	m, 1 H	C, N					C, N
H-4	5.55 – 5.47	m, 1 H	C, N				C, N	
H-1'	3.68	s, 3 H						
H-2, H-3	2.41 – 2.35	m, 4 H	C, N		C, N			
H-8	1.73	d, 3 H	C, N	C, N				



**Tabelle 4-2:** Kopplungen der  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC- und  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC-Experimente von (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (37). Q =  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC; B =  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC; Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$ ; chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

			H-5, H-6	H-7	H-4	H-1'	H-2, H-3	H-8
			6.08 – 5.94	5.65 – 5.56	5.55 – 5.47	3.68	2.41 – 2.35	1.73
			m, 2 H	m, 1 H	m, 1 H	s, 3 H	m, 4 H	d, 3 H
C-1	173.5	s						
C-6	131.4	d	Q, B	B			B	
C-5	131.2	d	Q, B		B		B	B
C-4	129.1	d	B		Q		B	
C-7	127.9	d	B	Q				B
C-1'	51.5	q				Q		
C-2	33.8	t			B		Q, B	
C-3	27.7	t	B		B		Q, B	
C-8	18.0	q	B	B				Q

**Tabelle 4-3:** Kopplungen der  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY- und  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY-Experimente von (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (51). C =  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY; N =  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -NOESY; Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$ ; chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

			H-5	H-6	H-4	H-7	H-1'	H-2, H-3	H-8
			6.41 – 6.34	5.99 – 5.93	5.67 – 5.60	5.42	3.68	2.46 – 2.35	1.73
			m, 1 H	m, 1 H	m, 1 H	dq, 1 H	s, 3 H	m, 4 H	dd, 3 H
H-5	6.41 – 6.34	m, 1 H		C	C			N	N
H-6	5.99 – 5.93	m, 1 H	C		N	C, N			C
H-4	5.67 – 5.60	m, 1 H	C	N				C	
H-7	5.42	dq, 1 H		C, N					C
H-1'	3.68	s, 3 H							
H-2, H-3	2.46 – 2.35	m, 4 H	N		C				
H-8	1.73	dd, 3 H	N	C		C			

**Tabelle 4-4:** Kopplungen der  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HSQC- und  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC-Experimente von (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**51**).  $Q = ^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HSQC;  $B = ^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC; Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$ ; chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

			H-5	H-6	H-4	H-7	H-1'	H-2, H-3	H-8
			6.41 – 6.34	5.99 – 5.93	5.67 – 5.60	5.42	3.68	2.46 – 2.35	1.73
			m, 1 H	m, 1 H	m, 1 H	dq, 1 H	s, 3 H	m, 4 H	dd, 3 H
C-1	173.5	s					B	B	
C-4	131.5	d			Q			B	
C-6	129.1	d		Q					B
C-5	126.5	d	Q					B	
C-7	125.0	d				Q			B
C-1'	51.6	q					Q		
C-2	33.9	t						Q, B	
C-3	28.1	t						Q, B	
C-8	13.3	q							Q

Die aus der Auswertung der 2D-NMR-Daten erhaltene Zuordnung der Isomere wurde durch die beobachteten Kopplungsfrequenzen bestätigt (**Tabelle 4-5**). Dabei wurde zugrunde gelegt, dass die  $^3J$ -Kopplungskonstante zwischen den Protonen einer *trans*-konfigurierten Doppelbindung größer ist als die bei der entsprechenden *cis*-Doppelbindung. Zum Vergleich sind im unteren Teil von **Tabelle 4-5** entsprechende Literaturwerte angegeben.<sup>[41]</sup>

**Tabelle 4-5:** Kopplungskonstanten  $^3J_{\text{H,H}}$  [Hz] der 4,6-Octadiensäuremethylester-Isomere.

	4 <i>E</i> ,6 <i>E</i>	4 <i>Z</i> ,6 <i>E</i>	4 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i>	4 <i>E</i> ,6 <i>Z</i>
H-3 – H-4	7.2	7.5		
H-4 – H-5	14.3	10.7	11.7	15.1
H-5 – H-6	10.7	10.9	11.7	10.9
H-6 – H-7	14.2	13.6	11.8	10.8
H-7 – H-8	6.9	6.7	7.0	7.1
<hr/>				
$^3J$ Alkyl	0 – 12, typischer Wert: 7			
$^3J$ =CH–CH=	9 – 13, typischer Wert: 10			
$^3J$ –CH=CH <sub>2</sub> <i>cis</i>	5 – 14, typischer Wert: 10			
$^3J$ –CH=CH <sub>2</sub> <i>trans</i>	11 – 19, typischer Wert: 16			

### 4.1.2 Decadiensäure

Im Rahmen früherer Arbeiten wurde in den Naturproben bereits (*Z*)-4-Decensäure (**24**) nachgewiesen.<sup>[25]</sup> Es erschien daher naheliegend, dass es sich bei der unbekannten Decadiensäure analog zur Octadiensäure um das 4,6-Isomer handelt. Die Synthese erfolgte ausgehend von 4-Brombuttersäuremethylester (**52**). Dieser wurde zunächst mit Triphenylphosphin in das entsprechende Phosphoniumsalz **53** umgewandelt und im nächsten Schritt in einer WITTIG-Reaktion mit (*E*)-2-Hexen-1-al (**54**) zu (*4E,6E*)-4,6-Decadiensäuremethylester (**55**) umgesetzt (Abb. 4-8).<sup>[42, 43]</sup> Dabei entstand neben dem gewünschten Produkt auch ein geringer Anteil des (*4Z,6E*)-Isomers **56** (*E:Z*-Verhältnis gemäß Gaschromatogramm etwa 5:1).

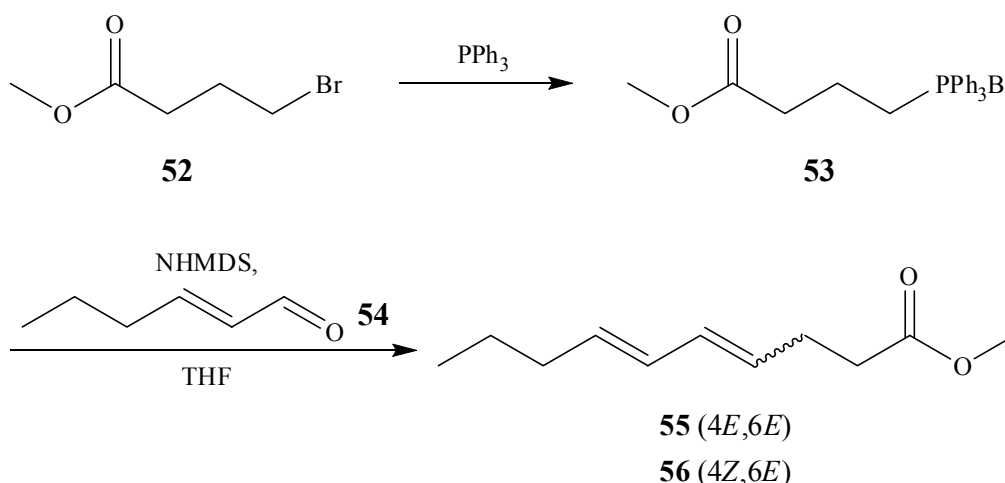
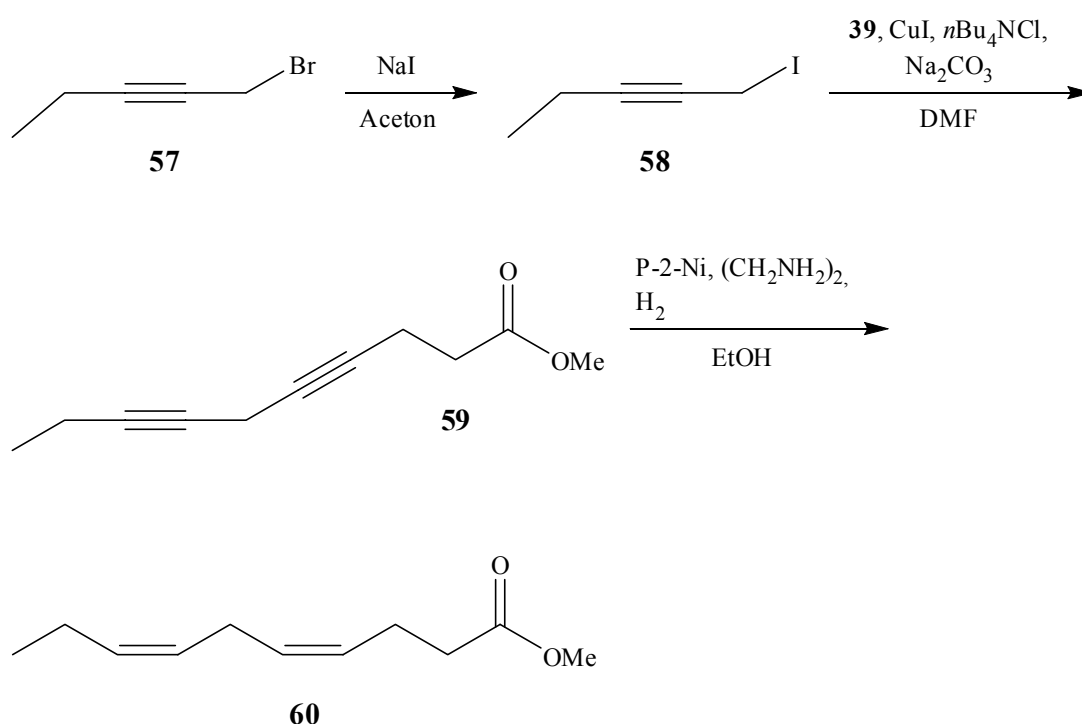


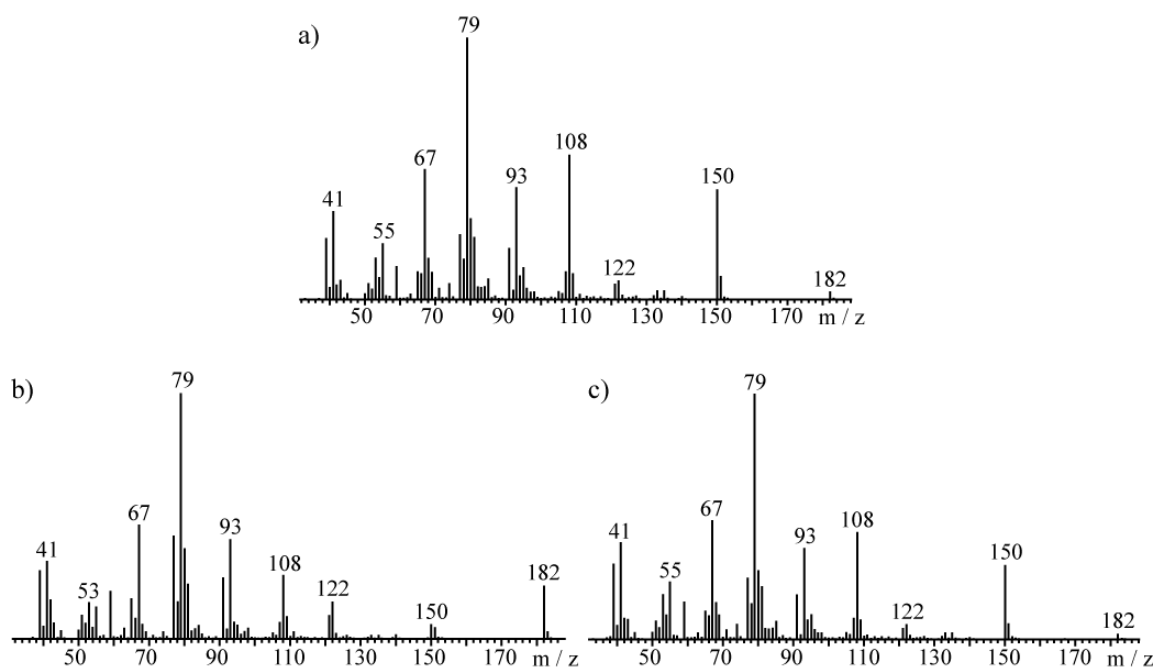
Abb. 4-8: Synthese von (*4E,6E*)-4,6-Decadiensäuremethylester (**55**).

Die anschließende gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung zeigte jedoch, dass 4,6-Decadiensäuremethylester nicht identisch mit der gesuchten natürlichen Verbindung war. Daher wurde vermutet, dass ein durch eine Methylengruppe unterbrochenes Doppelbindungssystem in all-(*Z*)-Konfiguration vorlag. Dieses Strukturelement ist bereits aus anderen, häufig in der Natur vorkommenden Fettsäuren wie Linol- (**11**) und Linolensäure (**12**) bekannt. Die Darstellung des (*4Z,7Z*)-4,7-Decadiensäuremethylesters (**60**) auf dem in Abb. 4-9 gezeigten Weg und anschließende GC/MS-Analyse ergab, dass **60** die gesuchte Verbindung war. Die Massenspektren aller drei Verbindungen sind in Abb. 4-10 dargestellt.

Die Synthese von **60** erfolgte in drei Schritten. Zunächst wurde 1-Brom-2-pentin (**57**) mit Natriumiodid in einer FINKELSTEIN-Reaktion in das entsprechende Iodid **58** überführt.<sup>[44]</sup> Dieses wurde mit 4-Pentinsäuremethylester (**39**) umgesetzt,<sup>[45]</sup> und das gebildete Diin **59** wurde unter Verwendung von P-2 Nickel partiell zum gewünschten Methylester **60** hydriert.<sup>[33, 34]</sup> Durch die katalytische Hydrierung der beiden Dreifachbindungen von **59** im letzten Schritt der Synthese war die (Z)-Konfiguration der Doppelbindungen von **60** vorgegeben.

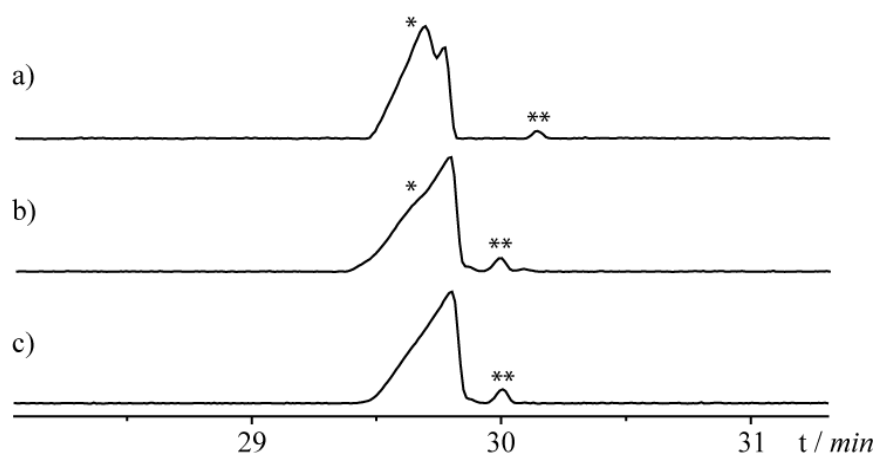


**Abb. 4-9:** Synthese von (4Z,7Z)-4,7-Decadiensäuremethylester (**60**).



**Abb. 4-10:** Vergleich der Massenspektren des Decadiensäuremethylesters aus der Umesterung einer Naturprobe (Probe 3) und der synthetisierten Decadiensäuremethylester-Isomere. a) Natürliche Verbindung; b) (4E,6E)-4,6-Decadiensäuremethylester (**55**); c) (4Z,7Z)-4,7-Decadiensäuremethylester (**60**).

Die Identität der synthetischen Verbindung mit dem natürlichen Molekül konnte auch hier durch Koinjektion bestätigt werden (**Abb. 4-11**).



**Abb. 4-11:** Gaschromatographische Untersuchung des (4Z,7Z)-4,7-Decadiensäuremethylesters (**60**) an unpolarer Phase (HP-5; Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 3 °C/Min. bis 175 °C, danach 10 °C/Min. bis 275 °C). a) Umgeesterte Naturprobe (Probe 3); b) Koinjektion der umgeesterten Naturprobe mit **60**; c) **60**. \* = (Z)-4-Decensäuremethylester; \*\* = Verunreinigung.

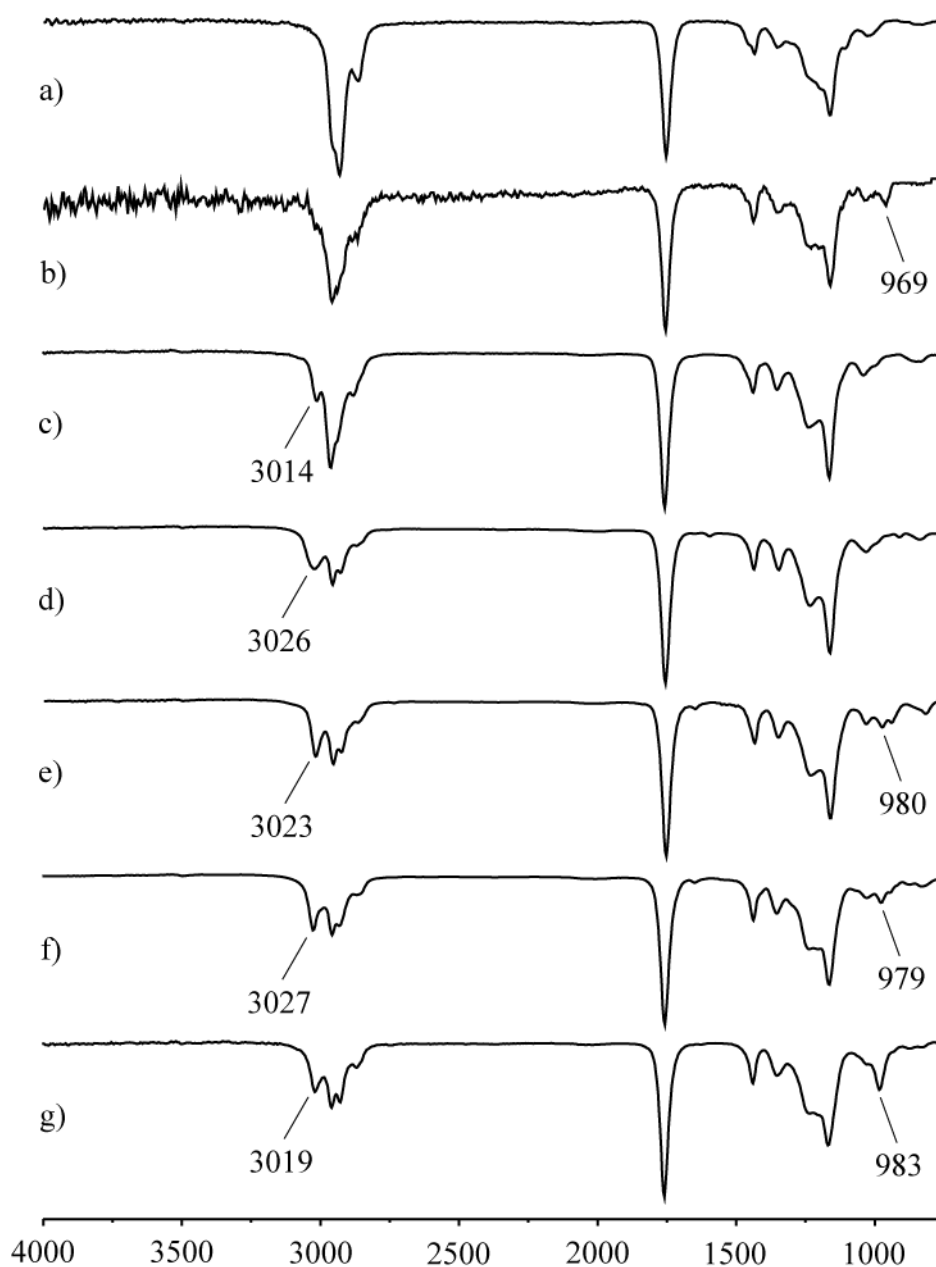
### 4.1.3 GC/IR-Untersuchungen

Die Resultate für die Aufklärung der Doppelbindungskonfiguration der 4,6-Octadien- und der 4,7-Decadiensäure konnten durch GC/IR-Untersuchungen untermauert werden. Die Ergebnisse sind in **Abb. 4-12** und **Abb. 4-13** dargestellt.

Im Gasphasen-IR-Spektrum zeigen (Z)-Doppelbindungen eine Absorption bei 3011 – 3028  $\text{cm}^{-1}$ , während (E)-Doppelbindungen durch eine Bande bei 965 – 980  $\text{cm}^{-1}$  identifiziert werden können.<sup>[46, 47]</sup> Das IR-Spektrum von (E)-4-Octensäuremethylester zeigt eine Absorption bei 969  $\text{cm}^{-1}$ , der isomere (Z)-4-Octensäuremethylester hingegen eine Bande bei 3014  $\text{cm}^{-1}$ . Beide Absorptionen fehlen im Spektrum von Octansäuremethylester.

Die vier Konfigurationsisomere des 4,6-Octadiensäuremethylesters können anhand der Intensität der Absorption im Bereich der (E)-Doppelbindung unterschieden werden. Das all-(Z)-Isomer **45** zeigt keine Absorption, das (4Z,6E)- und das (4E,6Z)-Isomer **44** und **51** haben annähernd die gleiche Intensität relativ zur Intensität der C=O-Valenzschwingung (1760  $\text{cm}^{-1}$ ) und das all-(E)-Isomer **37** weist eine etwa doppelt so große relative Intensität auf.

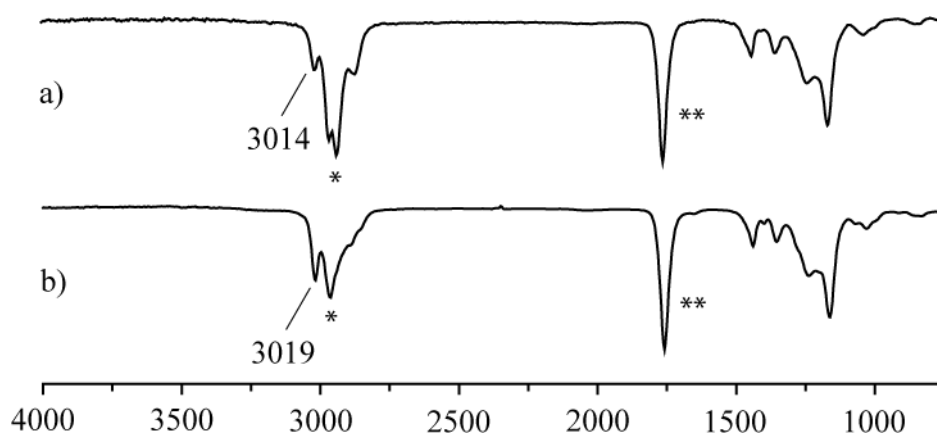
Alle vier Verbindungen zeigen jedoch eine Absorptionsbande im für die Identifikation von (Z)-konfigurierten Doppelbindungen beschriebenen Bereich, die auf das Vorliegen eines konjugierten Doppelbindungssystems zurückzuführen ist.<sup>[46]</sup> Die Wellenzahl der Absorption ist bei allen Isomeren unterschiedlich; sie ist vom Vorhandensein und der Lage von (Z)-Doppelbindungen im Molekül abhängig. Das (4E,6E)-Isomer **37** besitzt eine Absorption bei 3019  $\text{cm}^{-1}$ . Eine Veränderung der Konfiguration der Doppelbindungen führt zu einer Erhöhung der Wellenzahl, dabei werden bei einer (Z)-Doppelbindung am vorletzten Kohlenstoffatom der Kette höhere Werte (3027  $\text{cm}^{-1}$ ) beobachtet als bei der (Z)-Doppelbindung in der Mitte der Kohlenstoffkette (3023  $\text{cm}^{-1}$ ). Die relativ breite Bande bei 3026  $\text{cm}^{-1}$  im Spektrum des all-(Z)-Isomers **45** kann durch die Überlagerung der Absorptionen der beiden (Z)-Doppelbindungen erklärt werden.



**Abb. 4-12:** Vergleich der Gasphasen-IR-Spektren von a) Octansäuremethylester; b) (*E*)-4-Octensäuremethylester; c) (*Z*)-4-Octensäuremethylester; d) (4*Z*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**45**); e) (4*Z*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**44**); f) (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**51**); g) (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**). \* = C=O-Valenzschwingung.

Sowohl (*Z*)-4-Decensäuremethylester als auch (4*Z*,7*Z*)-4,7-Decadiensäuremethylester (**60**) zeigen keine Absorption im Bereich für (*E*)-Doppelbindungen. Die relative Intensität der Bande für (*Z*)-Doppelbindungen (3014 cm⁻¹ für das Monoen, 3019 cm⁻¹ für das Dien) ist für das doppelt ungesättigte Molekül höher als für das einfach ungesättigte, während die relative

Intensität der asymmetrischen  $\text{CH}_2$ -Valenzschwingung ( $2935\text{ cm}^{-1}$  bzw.  $2965\text{ cm}^{-1}$ ) für die einfach ungesättigte Verbindung höher ist.

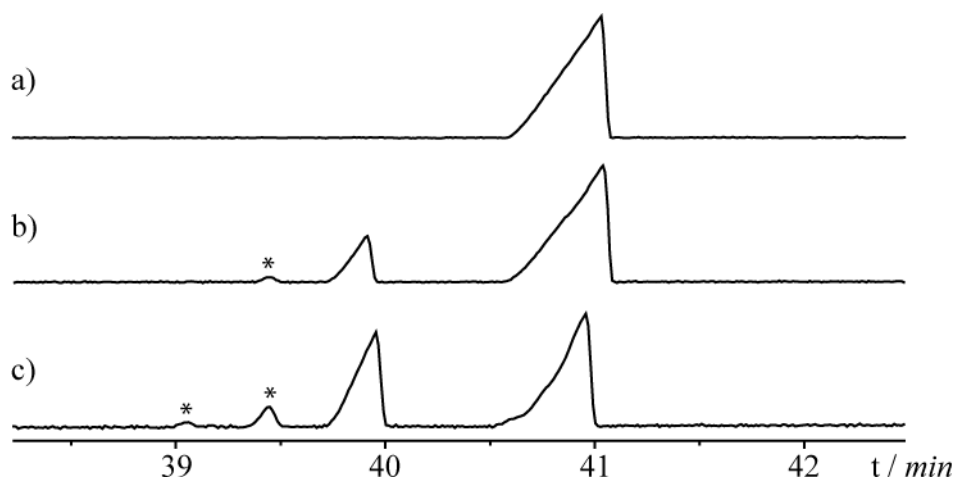


**Abb. 4-13:** Vergleich der Gasphasen-IR-Spektren von a) (Z)-4-Decensäuremethylester; b) (4Z,7Z)-4,7-Decadiensäuremethylester (**60**). \* = asymmetrische  $\text{CH}_2$ -Valenzschwingung; \*\* = C=O-Valenzschwingung.

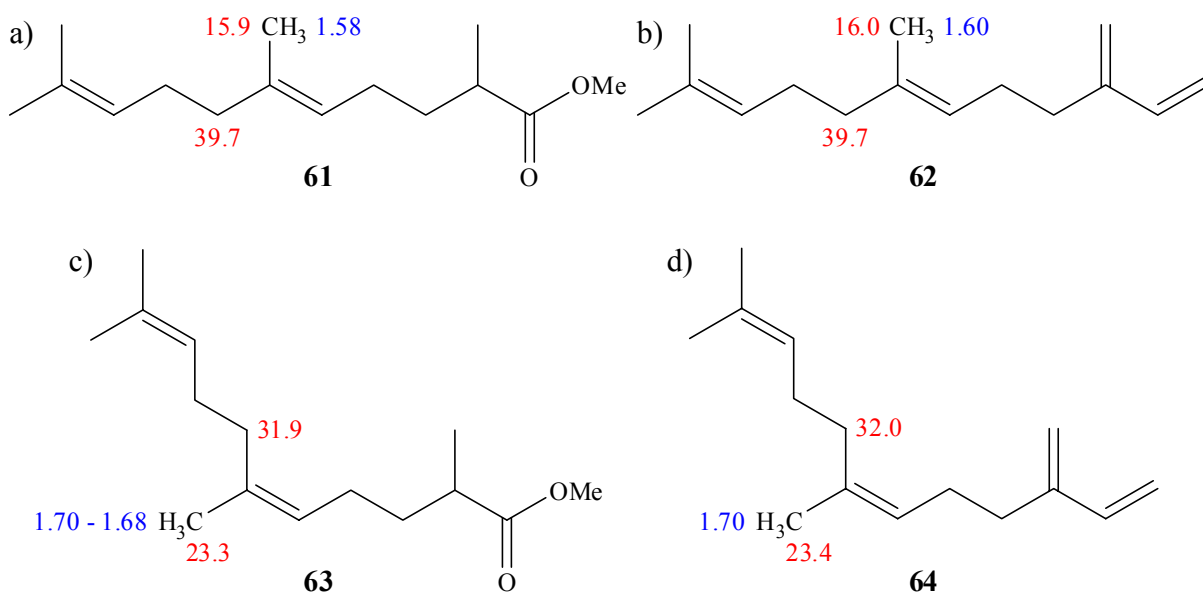
#### 4.1.4 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure

Die Synthese des *rac*-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylesters erfolgte bereits im Rahmen früherer Arbeiten.<sup>[26]</sup> Die Doppelbindung zwischen C-5 und C-6 wurde dabei in einer WITTIG-Reaktion geknüpft, daher war das Produkt ein Gemisch aus (*E*)- und (*Z*)-Isomer. Das Verhältnis der beiden Isomere betrug etwa 5:3. Anhand der GC/MS-Daten sowie der in **Abb. 4-14** dargestellten Koinjektion konnte das im Überschuss vorliegende Isomer mit der höheren Retentionszeit als Naturstoff identifiziert werden. Ein Vergleich der NMR-Daten des Isomerengemischs mit Literaturspektren der strukturverwandten Verbindungen (*E*)- und (*Z*)- $\beta$ -Farnesen (**62** und **64**) ermöglichte die Bestimmung der Konfiguration der Doppelbindung des Naturstoffs.<sup>[48]</sup> Die chemischen Verschiebungen von H-1'' im  $^1\text{H}$ -NMR sowie C-7 und C-1'' im  $^{13}\text{C}$ -NMR unterschieden sich deutlich, die Gegenüberstellung der experimentell ermittelten Werte mit den Literaturangaben für beide Farnesen-Isomere ist in **Abb. 4-15** dargestellt. Daraus ergibt sich, dass die natürliche Verbindung (*E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (**61**) ist.





**Abb. 4-14:** Gaschromatographische Untersuchung des (*EZ*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylesters an unpolarer Phase (HP-5; Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 3 °C/Min. bis 175 °C, danach 10 °C/Min. bis 275 °C). a) Umgeesterte Naturprobe (Probe 3); b) Koinjektion der umgeesterten Naturprobe mit (*EZ*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester; c) (*EZ*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester. \* = Verunreinigung.



**Abb. 4-15:** Vergleich der NMR-Daten von (*E*)- und (*Z*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**61** und **63**) mit (*E*)- und (*Z*)-β-Farnesen (**62** und **64**). a) (*E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**61**); b) (*E*)-β-Farnesen (**62**); c) (*Z*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**63**); d) (*Z*)-β-Farnesen (**64**). <sup>1</sup>H-NMR: blau; <sup>13</sup>C-NMR: rot; Lösungsmittel: CDCl<sub>3</sub>; chemische Verschiebungen δ in ppm.

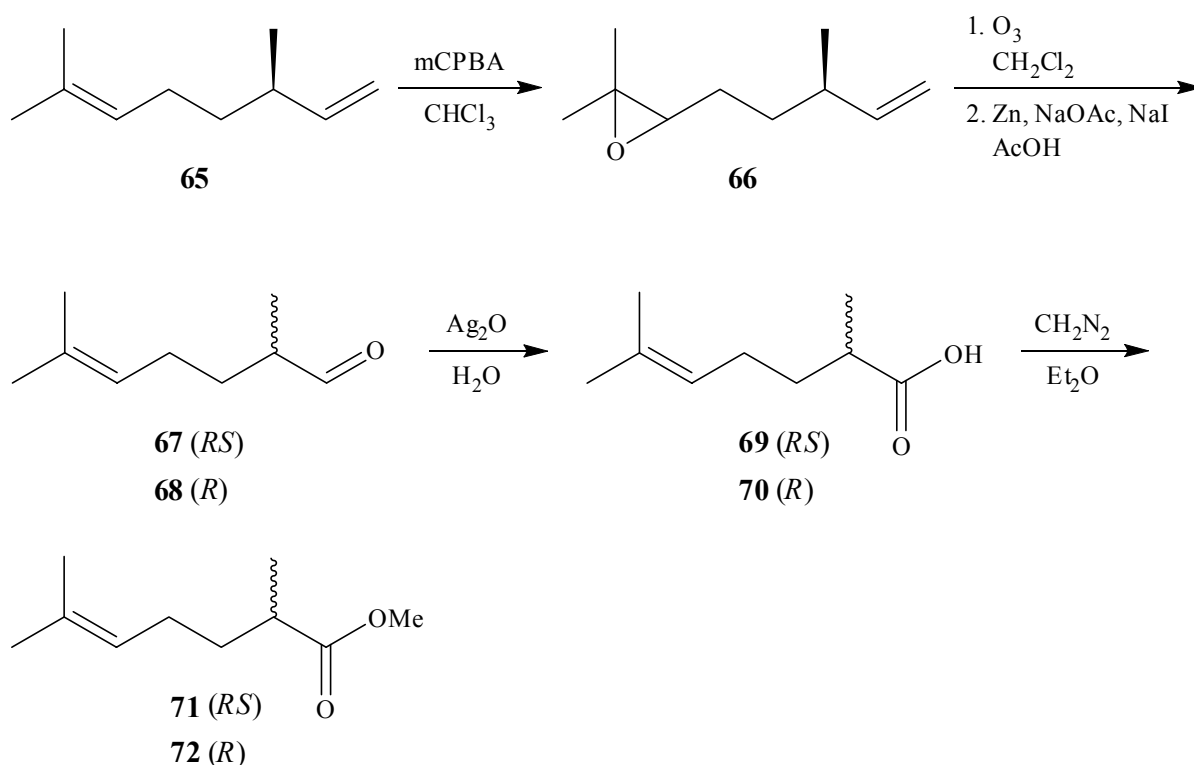
## 4.2 Aufklärung der Stereochemie der methylverzweigten Fettsäuren

Die Aufklärung der Stereochemie der sechs methylverzweigten Fettsäuren erfolgte mittels chiraler Gaschromatographie. Dafür wurden zunächst enantioselektive Synthesen der entsprechenden Verbindungen durchgeführt. Anhand der ebenfalls dargestellten Racemate wurden Methoden zur Enantiomerentrennung entwickelt und mit Hilfe von Koinjektionen die Konfiguration der natürlichen Fettsäuren ermittelt.

Einen Überblick über die für die gaschromatographischen Trennungen verwendeten Bedingungen gibt **Tabelle 9-3** (im Anhang).

### 4.2.1 2,6-Dimethyl-5-heptensäure

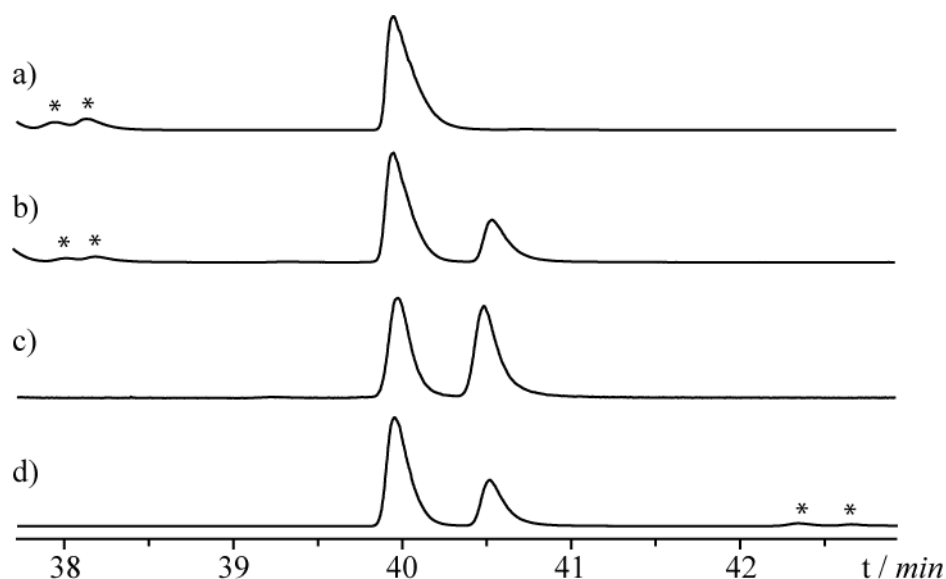
Die Synthese von *rac*-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**71**) erfolgte ausgehend von 2,6-Dimethyl-5-heptenal (**67**), welches zunächst mit Silberoxid zur entsprechenden Säure **69** oxidiert wurde.<sup>[49, 50]</sup> Diese wurde dann mit Diazomethan zum Methylester **71** verestert.<sup>[30]</sup> Die enantioselektive Synthese von (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**) ging von einem chiralen Edukt, (–)-( $\beta$ )-Citronellen (**65**), aus (**Abb. 4-16**). Dieses wurde zunächst an der höher substituierten Doppelbindung epoxidiert. Anschließend wurde die terminale Doppelbindung ozonolytisch gespalten. Bei der reduktiven Aufarbeitung wurde gleichzeitig das Epoxid entfernt, so dass (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptenal (**68**) entstand.<sup>[51]</sup> Der Aldehyd **68** wurde dann analog zum racemischen Aldehyd **67** zum (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**) umgesetzt.



**Abb. 4-16:** Synthese von *rac*-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (71) und (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (72).

Zur Durchführung der gaschromatographischen Enantionerentrennungen standen drei verschiedene chirale Säulen zur Verfügung: Hydrodex-6-TBDMS (2,3-Di-*O*-methyl-6-*O*-TBDMS-β-cyclodextrin, 35 m × 0.25 mm i.D., 0.25 μm Filmdicke; *Macherey-Nagel*), 2,6-Di-*O*-methyl-3-*O*-decanoyl-β-cyclodextrin (15 m × 0.32 mm i.D., 0.25 μm Filmdicke; *König*) und Lipodex G (2,3-Di-*O*-pentyl-6-*O*-methyl-γ-cyclodextrin, 50m × 0.25mm i.D.; *Macherey-Nagel*). Die geeignete stationäre Phase und das optimale Heizprogramm wurden für jede Trennung experimentell ermittelt. Für den 2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester wurde die Hydrodex-6-TBDMS-Säule ausgewählt. Es konnte eine vollständige Trennung der Enantiomere erzielt werden (**Abb. 4-17**). Dabei zeigte sich, dass die natürliche Verbindung (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäure (70) war.

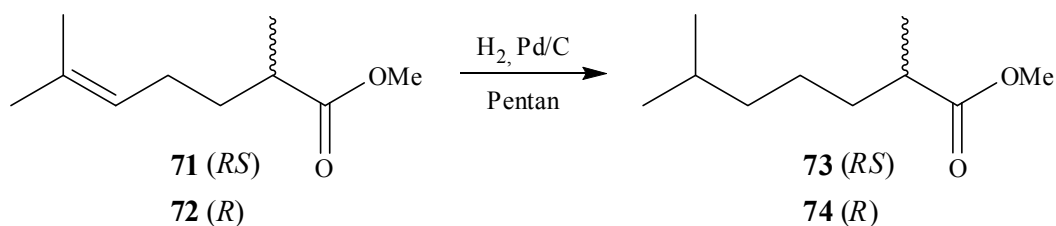
Der Enantiomerenüberschuss des synthetisierten (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylesters (72) betrug 41.7 %. Ein vergleichsweise hoher Anteil des unerwünschten (*S*)-Isomers konnte bereits beim (*R*)-6,7-Epoxy-3,7-dimethyl-1-octen (66) mit einem ee = 52.8 % beobachtet werden. Er kam dadurch zustande, dass das als Edukt eingesetzte (–)-(β)-Citronellen (65) nur in technischer Qualität mit einem deutlichen Anteil des „falschen“ Enantiomers erhältlich war.



**Abb. 4-17:** Gaschromatographische Untersuchung von 2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester an chiraler Phase (Hydrodex-6-TBDMS; Heizprogramm: 50 °C, 2 Minuten isotherm, dann 1 °C/Min. bis 90 °C). a) Umgeesterte Naturprobe (Probe 3); b) Koinjektion der umgeesterten Naturprobe mit *rac*-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**71**); c) **71**; d) (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**). \* = Verunreinigung.

#### 4.2.2 2,6-Dimethylheptansäure

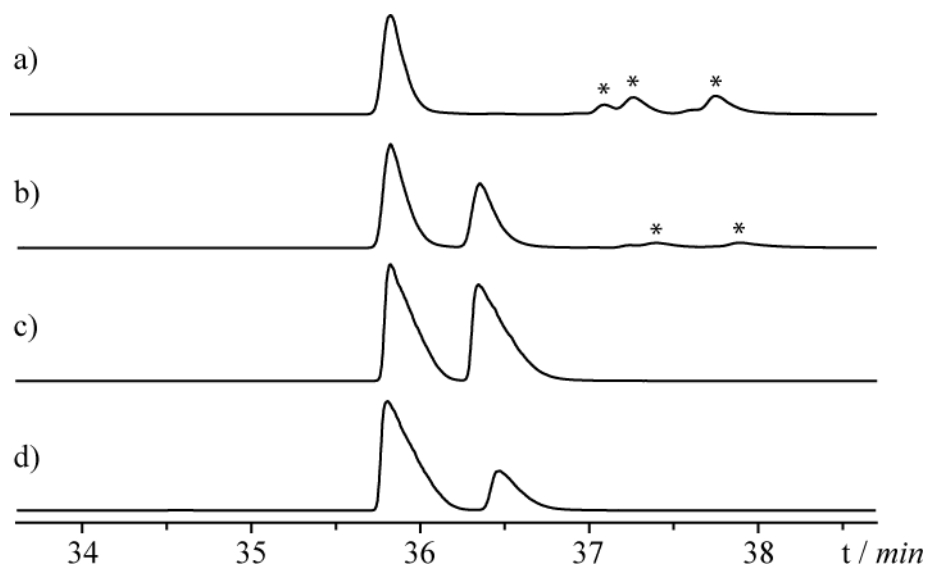
Die katalytische Hydrierung von *rac*-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**71**) bzw. (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**) mit Pd/C lieferte *rac*-2,6-Dimethylheptensäuremethylester (**73**) bzw. (*R*)-2,6-Dimethylheptensäuremethylester (**74**) (**Abb. 4-18**).



**Abb. 4-18:** Synthese von *rac*-2,6-Dimethylheptensäuremethylester (**73**) und (*R*)-2,6-Dimethylheptensäuremethylester (**74**).

Die gaschromatographische Enantiomerentrennung des 2,6-Dimethylheptensäuremethylesters wurde unter den gleichen Bedingungen wie beim 2,6-Dimethyl-5-heptensäure-

methylester durchgeführt. Als stationäre Phase wurde Hydrodex-6-TBDMS eingesetzt. Auch hier konnte eine vollständige Trennung der Enantiomere erzielt werden (**Abb. 4-19**). Die Auswertung der Gaschromatogramme ergab, dass die natürliche Fettsäure in (*R*)-Konfiguration vorlag.

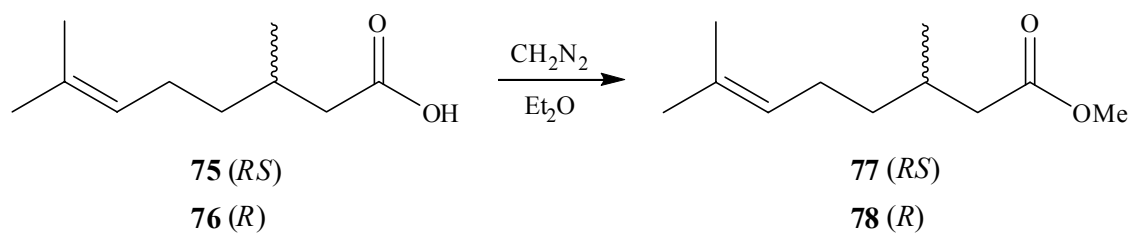


**Abb. 4-19:** Gaschromatographische Untersuchung von 2,6-Dimethylheptansäuremethylester an chiraler Phase (Hydrodex-6-TBDMS; Heizprogramm: 50 °C, 2 Minuten isotherm, dann 1 °C/Min. bis 90 °C). a) Umgeesterte Naturprobe (Probe 4); b) Koinjektion der umgeesterten Naturprobe mit *rac*-2,6-Dimethylheptansäuremethylester (**73**); c) **73**; d) (*R*)-2,6-Dimethylheptansäuremethylester (**74**). \* = Verunreinigung.

Das gewünschte Produkt der enantioselektiven Synthese, (*R*)-2,6-Dimethylheptansäuremethylester (**74**), lag mit ee = 52.0 % vor. Der vergleichsweise hohe Anteil des (*S*)-Isomers war bereits beim Edukt der Hydrierung, (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**), vorhanden.

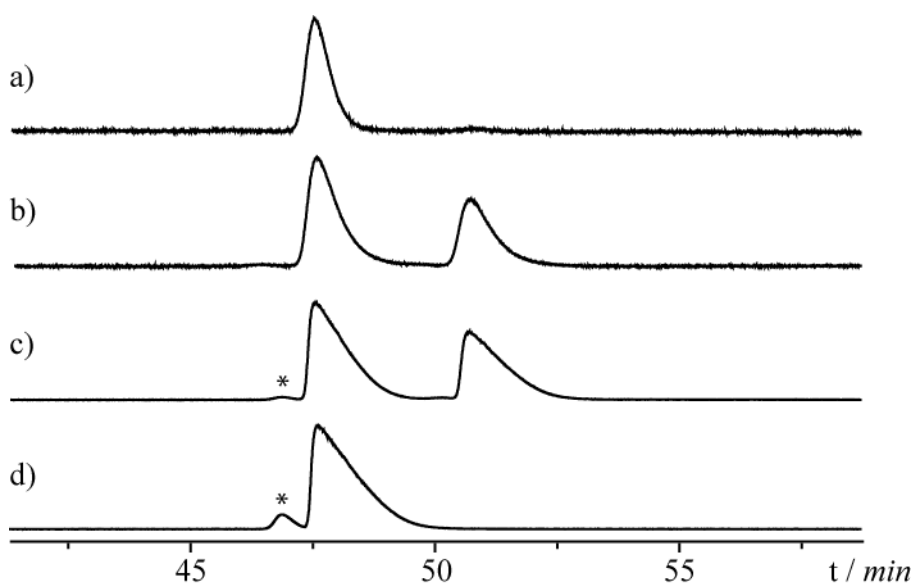
#### 4.2.3 3,7-Dimethyl-6-octensäure

Da 3,7-Dimethyl-6-octensäure (Citronellsäure) sowohl in der racemischen als auch in der enantiomerenreinen Form kommerziell erhältlich ist, konnten die entsprechenden Ester, *rac*-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**77**) und (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**78**), durch eine einfache Diazomethanveresterung erhalten werden (**Abb. 4-20**).<sup>[30]</sup>



**Abb. 4-20:** Synthese von *rac*-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**77**) und (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**78**).

Die Enantiomere des 3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylesters konnten unter Verwendung einer 2,6-Di-*O*-methyl-3-*O*-decanoyl- $\beta$ -cyclodextrin-Säule (15 m  $\times$  0.32 mm i.D., 0.25  $\mu$ m Filmdicke; König) getrennt werden. Es wurde eine Grundlinientrennung erzielt (**Abb. 4-21**), dabei zeigte sich, dass die natürliche Verbindung (*R*)-konfiguriert war.

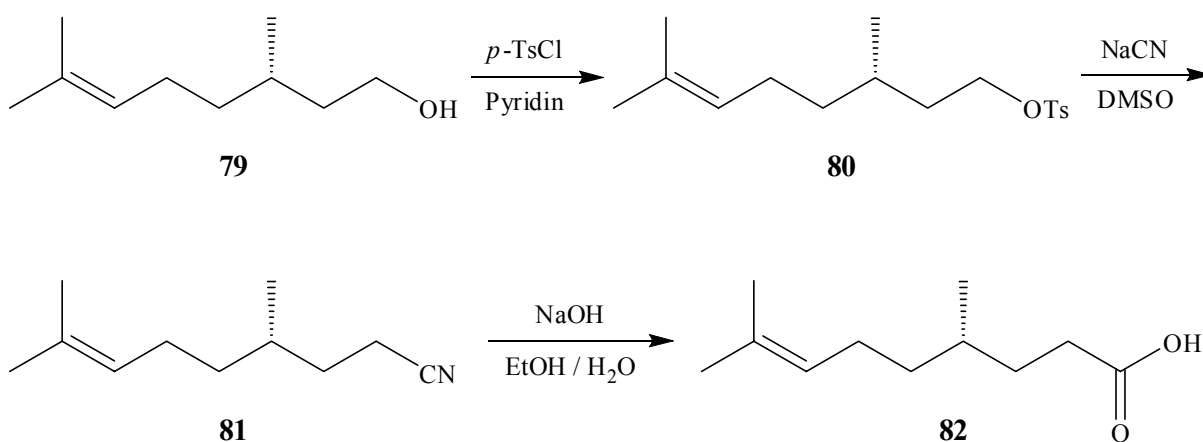


**Abb. 4-21:** Gaschromatographische Untersuchung von 3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester an chiraler Phase (König; Heizprogramm: 65 °C, 2 Minuten isotherm, dann 0.1 °C/Min. bis 71 °C). a) Umgeesterte Naturprobe (Probe 4); b) Koinjektion der umgeesterten Naturprobe mit *rac*-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**77**); c) **77**; d) (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**78**). \* = Verunreinigung.

Der ee = 100.0 % blieb bei der Veresterung der (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäure (**76**) zum Methylester **78** erhalten.

#### 4.2.4 4,8-Dimethyl-7-nonensäure

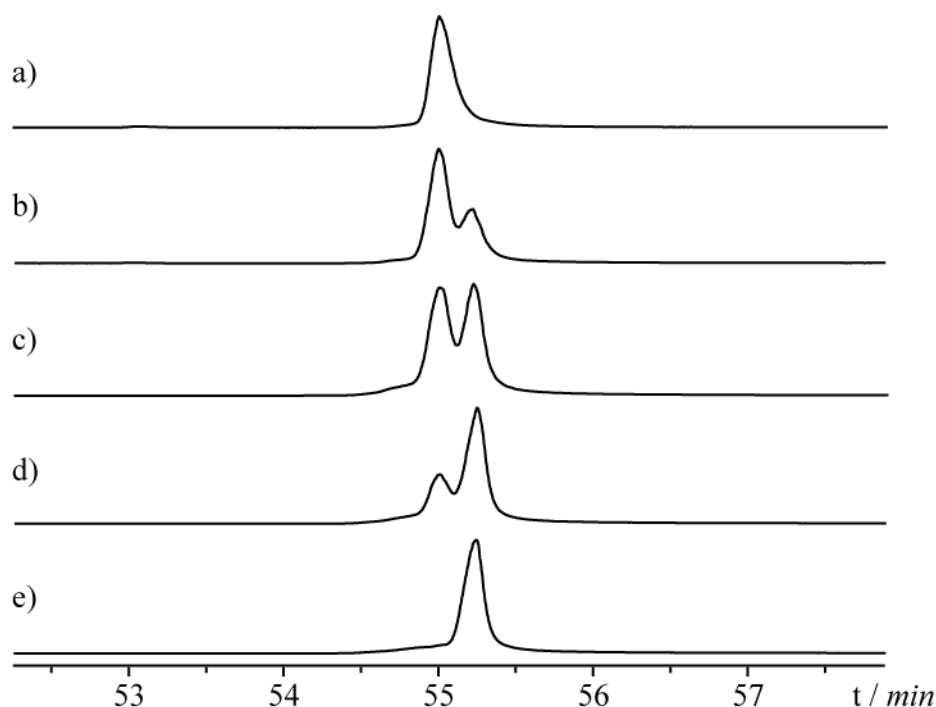
Die Synthese der *rac*-4,8-Dimethyl-7-nonensäure und des *rac*-4,8-Dimethyl-7-nonensäuremethylesters erfolgte bereits im Rahmen früherer Arbeiten.<sup>[26]</sup> Die (*S*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (**82**) wurde, analog zu der dort eingesetzten Strategie, durch Kettenverlängerung des enantiomerenreinen (*S*)-(-)-Citronellols (**79**) erhalten (**Abb. 4-22**). Dabei wurde die Hydroxyfunktion zunächst mit Toluolsulfonylchlorid tosyliert. Danach wurde die Tosylgruppe durch eine Nitrilgruppe substituiert, die schließlich basisch zur Säure **82** hydrolysiert wurde.<sup>[52]</sup>



**Abb. 4-22:** Synthese von (*S*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (**82**).

Die gaschromatographische Trennung der Enantiomere des 4,8-Dimethyl-7-nonensäuremethylesters war nicht erfolgreich, daher wurde die Stereochemie der C-4 Methylgruppe anhand der freien Säure aufgeklärt. Als stationäre Phase war dabei Hydrodex-6-TBDMS am besten geeignet. Obwohl keine vollständige Trennung der Enantiomere möglich war, konnte die Konfiguration der natürlichen Verbindung bestimmt werden, es handelte sich um (*R*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (**117**) (**Abb. 4-23**).

Da die chirale Gaschromatographie keine Grundlinientrennung ergab, war es nicht möglich, den exakten Enantiomerenüberschuss des Produkts aus der enantioselektiven Synthese zu berechnen. Eine grobe Abschätzung zeigte jedoch, dass er größer als 80 % war.



**Abb. 4-23:** Gaschromatographische Untersuchung von 4,8-Dimethyl-7-nonensäure an chiraler Phase (Hydrodex-6-TBDMS; Heizprogramm: 100 °C, 2 Minuten isotherm, dann 1 °C/Min. bis 160 °C). a) Verseifte Naturprobe (Probe 4); b) Koinjektion der verseiften Naturprobe mit *rac*-4,8-Dimethyl-7-nonensäure; c) *rac*-4,8-Dimethyl-7-nonensäure; d) Koinjektion von *rac*-4,8-Dimethyl-7-nonensäure und (*S*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (**82**); e) **82**.

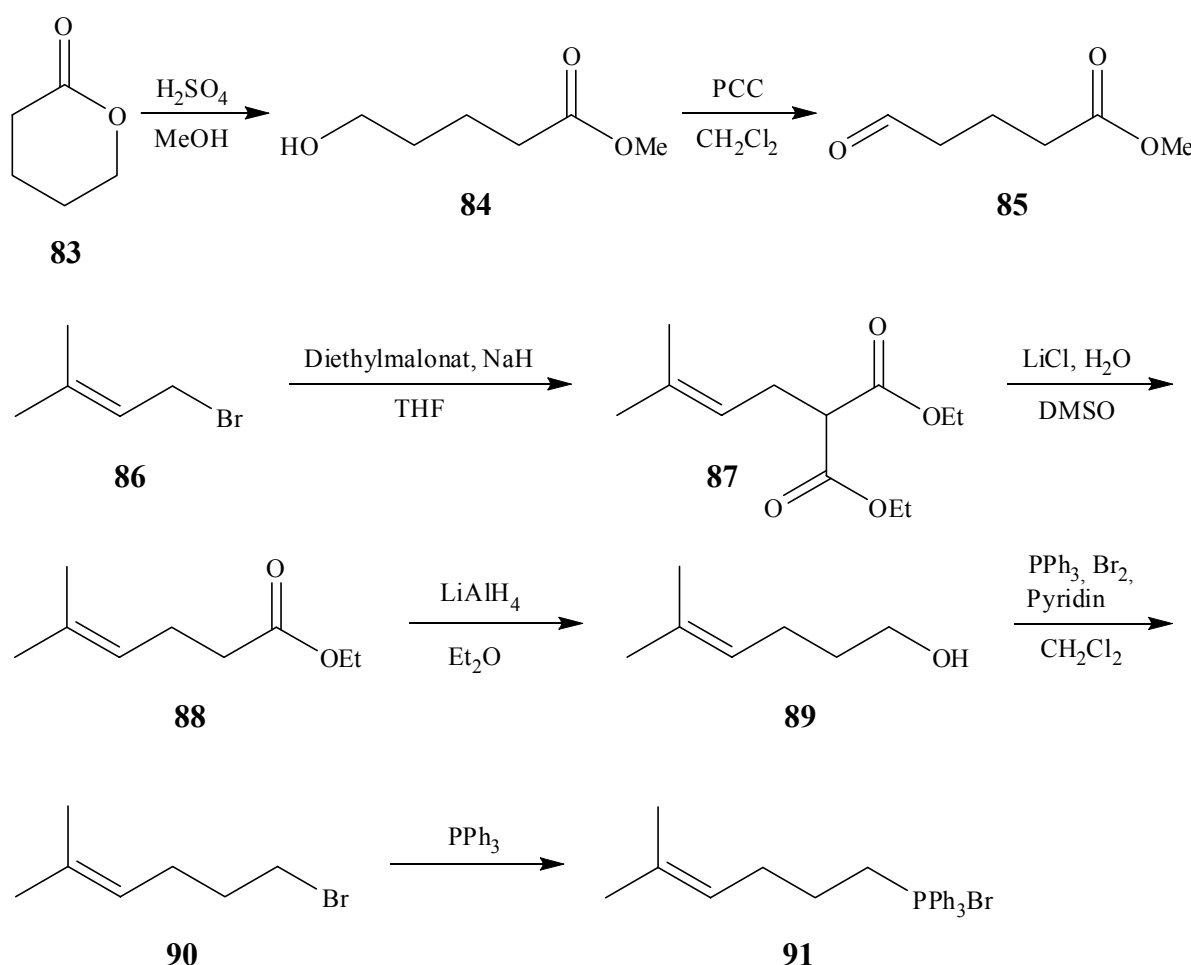
#### 4.2.5 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure

Zur Darstellung des (*S*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylesters (**97**) wurde die gleiche konvergente Synthesestrategie eingesetzt, die im Rahmen früherer Arbeiten für den racemischen 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester verwendet wurde (Abb. 4-24 und Abb. 4-25).<sup>[26]</sup> Methanolyse von  $\delta$ -Valerolacton (**83**) und sofortige Oxidation des Produkts **84** mit Pyridiniumchlorochromat lieferte 5-Oxopentansäuremethylester (**85**).<sup>[53, 54]</sup> Das Phosphoniumsalz **91** wurde in fünf Schritten dargestellt. Die Alkylierung von Diethylmalonat mit 1-Brom-3-methyl-2-buten (**86**), gefolgt von einer Monodecarboxylierung nach KRAPCHO, ergab 5-Methyl-4-hexensäureethylester (**88**).<sup>[29]</sup> Der Ester **88** wurde mit Lithiumaluminiumhydrid zum Alkohol **89** reduziert<sup>[29, 55]</sup> und anschließend mit Triphenylphosphin und Brom zu 6-Brom-2-methyl-2-hexen (**90**) umgesetzt.<sup>[56]</sup> Die Reaktion des Bromids **90** mit Triphenylphosphin lieferte das gewünschte Phosphoniumsalz **91**.<sup>[42, 57]</sup> Eine

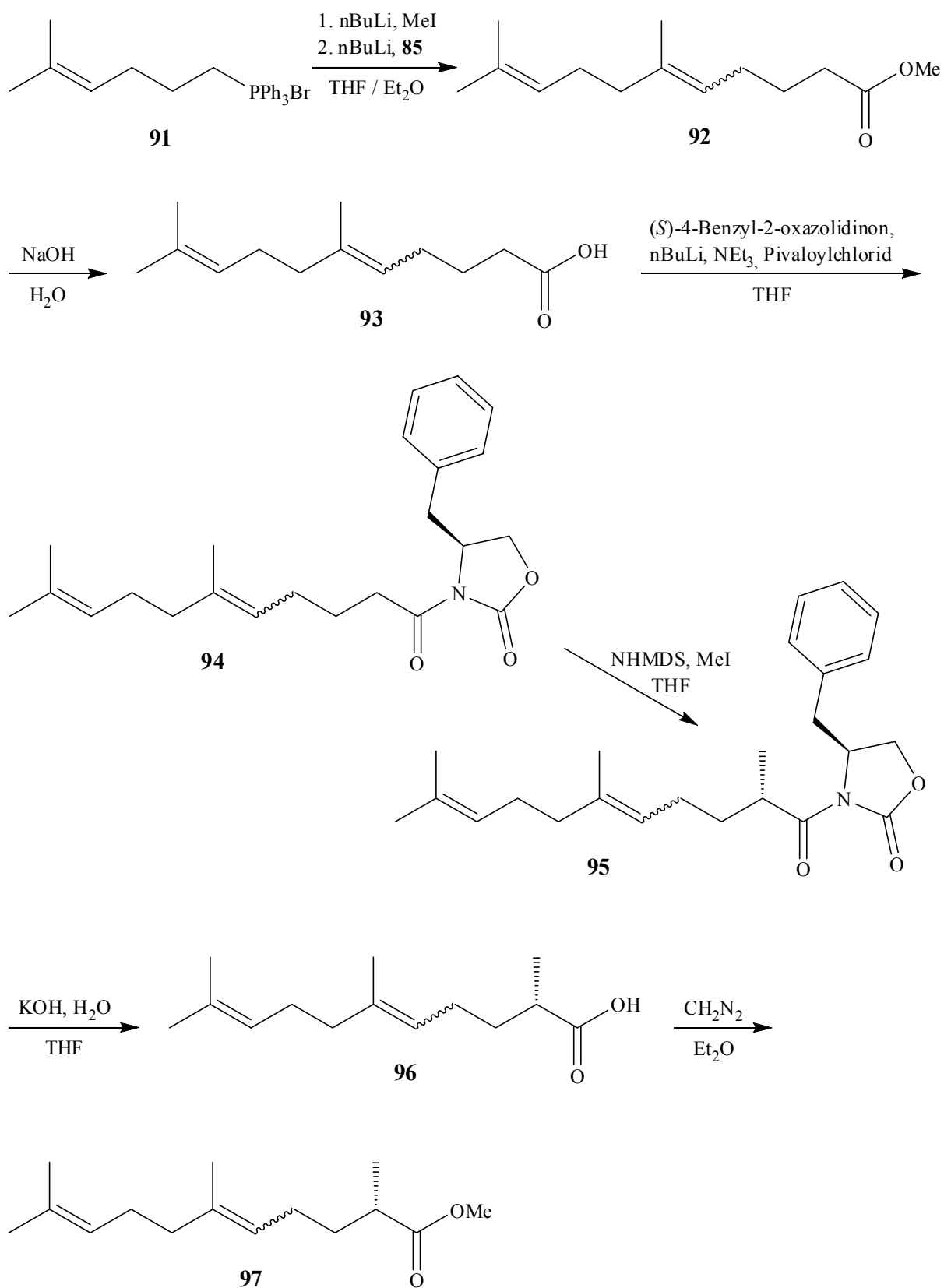


WITTIG-Reaktion der Carbonylverbindung **85** mit (1,5-Dimethyl-4-hexenyl)-triphenylphosphoniumbromid, welches *in situ* aus (5-Methyl-4-hexenyl)-triphenylphosphoniumbromid (**91**) hergestellt wurde, führte zu 6,10-Dimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**92**) (Gemisch von (*E*)- und (*Z*)-Isomer).<sup>[58]</sup> Der Ester **92** wurde basisch zur Säure **93** hydrolysiert.<sup>[55]</sup> Diese konnte dann nach der Methode von EVANS am C-2 enantioselectiv methyliert werden.<sup>[59]</sup> Dabei wurde (*S*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon als chirales Auxiliar eingesetzt. Die resultierende Säure **96** wurde schließlich mit Diazomethan zum (*S*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**97**) umgesetzt.<sup>[30]</sup>

Das Produkt der Synthese lag als Gemisch von (*E*)- und (*Z*)-**97** vor. Da die Isomere bei der Gaschromatographie sowohl an achiralen als auch an chiralen stationären Phasen deutliche Unterschiede in den Retentionszeiten aufwiesen, war eine vollständige Trennung in beiden Fällen leicht möglich. Bei der Untersuchung der Stereochemie der Verbindung wurde daher im Folgenden nur das (*E*)-Isomer von **97** betrachtet.

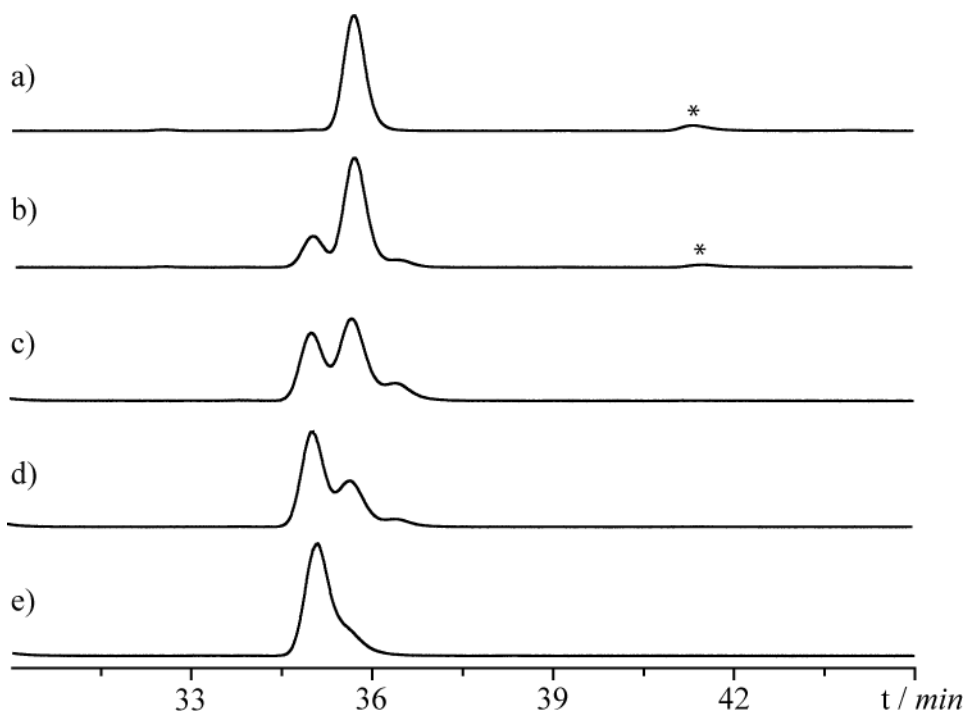


**Abb. 4-24:** Synthese von 5-Oxopentansäuremethylester (**85**) und (5-Methyl-4-hexenyl)-triphenylphosphoniumbromid (**91**).



**Abb. 4-25:** Synthese von (*S*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**97**).

Bei der gaschromatographischen Enantiomerentrennung wurde eine chirale Säule mit 2,6-Di-*O*-methyl-3-*O*-decanoyl- $\beta$ -cyclodextrin als stationäre Phase eingesetzt. Es konnte keine vollständige Trennung von (*R*)- und (*S*)-Isomer erzielt werden (**Abb. 4-26**), die Retentionszeiten der Enantiomere unterschieden sich jedoch genug voneinander, um festzustellen, dass die natürliche (*E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (*R*)-konfiguriert war.



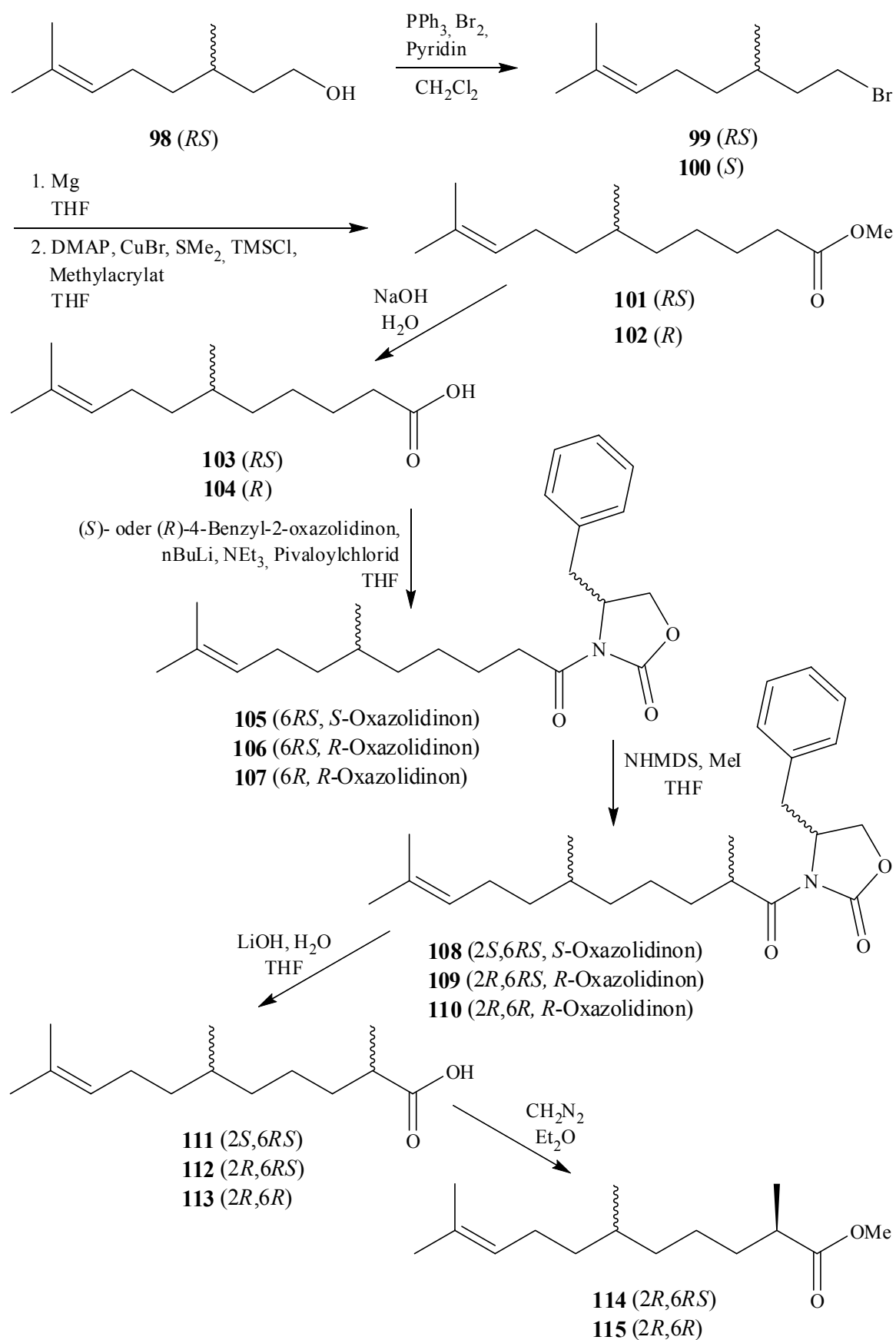
**Abb. 4-26:** Gaschromatographische Untersuchung von (*E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester an chiraler Phase (König; Heizprogramm: 110 °C, 2 Minuten isotherm, dann 0.1 °C/Min. bis 115 °C). a) Umgeesterte Naturprobe (Probe 3); b) Koinjektion der umgeesterten Naturprobe mit *rac*-(*E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**61**); c) **61**; d) Koinjektion von **61** und (*S,E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester; e) (*S,E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester. \* = Verunreinigung.

Da die chirale Gaschromatographie keine Grundlinientrennung ergab, war nur eine grobe Abschätzung des Enantiomerenüberschusses des synthetisierten (*S,E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylesters möglich. Dieser war größer als 70 %.

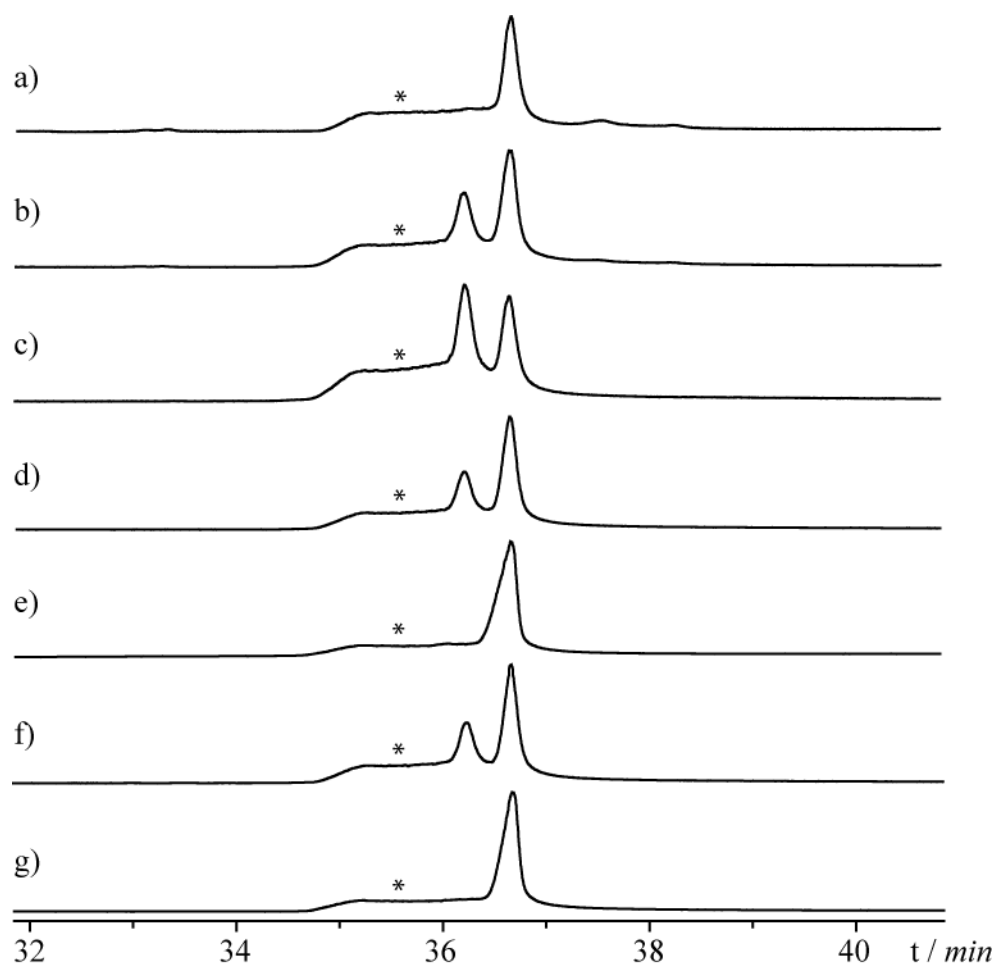
#### 4.2.6 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure

Bei der einzigen Verbindung mit zwei stereogenen Zentren, 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure, wurde zunächst die Stereochemie am C-2 untersucht. Da sich der 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester als ungeeignet erwies, wurde die freie Säure verwendet. Für den Vergleich mit der natürlichen Säure wurden zwei Verbindungen synthetisiert: *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure und (2*S*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**111**). Die bezüglich beider Stereozentren racemische Säure konnte durch Verseifung des bereits von MATTHIAS FRITZSCHE im Rahmen früherer Arbeiten<sup>[25]</sup> dargestellten *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylesters erhalten werden. Die Synthese der C-2 epimerenreinen (2*S*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**111**) erfolgte in Anlehnung an die zur Darstellung des *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylesters entwickelte Strategie. Die Methylgruppe am C-2 wurde durch eine enantioselektive Alkylierung nach EVANS eingeführt (**Abb. 4-27**).<sup>[59]</sup> Die Synthese ging von Citronellol (**98**) aus, das zunächst mit Triphenylphosphin und Brom in das entsprechende Bromid **99** umgewandelt wurde.<sup>[56]</sup> Dieses wurde in einer 1,4-Addition mit Acrylsäuremethylester zum (6*RS*)-6,10-Dimethyl-9-undecensäuremethylester (**101**) umgesetzt.<sup>[55, 60, 61]</sup> Basische Hydrolyse lieferte die freie Säure **103**,<sup>[55]</sup> die dann mit (*S*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon als chiraalem Auxiliar enantioselektiv methyliert wurde.

Mit *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure wurde eine Methode zur Enantiomeren-trennung entwickelt. Dabei kam die Hydrodex-6-TBDMS-Säule zum Einsatz. Erwartungsgemäß konnte eine Trennung der C-2 epimeren Säuren beobachtet werden, während die Stereochemie am C-6 keine Auswirkungen auf die Retention der Verbindungen hatte (**Abb. 4-28**). Der Vergleich der racemischen Säure mit dem (2*S*,6*RS*)-Isomer **111** und der verseiften Naturprobe zeigte, dass C-2 (*R*)-konfiguriert war.



**Abb. 4-27:** Synthese von (2*S*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**111**) sowie (2*R*,6*RS*)- und (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**114** und **115**).



**Abb. 4-28:** Gaschromatographische Untersuchung des Stereozentrums am C-2 von 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure an chiraler Phase (Hydrodex-6-TBDMS; Heizprogramm: 150 °C, 2 Minuten isotherm, dann 1 °C/Min. bis 190 °C). a) Verseifte Naturprobe (Probe 4); b) Koinjektion der verseiften Naturprobe mit *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure; c) *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure; d) Koinjektion von *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure und (2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**112**); e) **112**; f) Koinjektion von *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure und (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**113**); g) **113**. \* = Verunreinigung.

Der bei der enantioselektiven Methylierung nach EVANS erzielte Enantiomerenüberschuss lag für die (2*S*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**111**) bei 82.7 %.

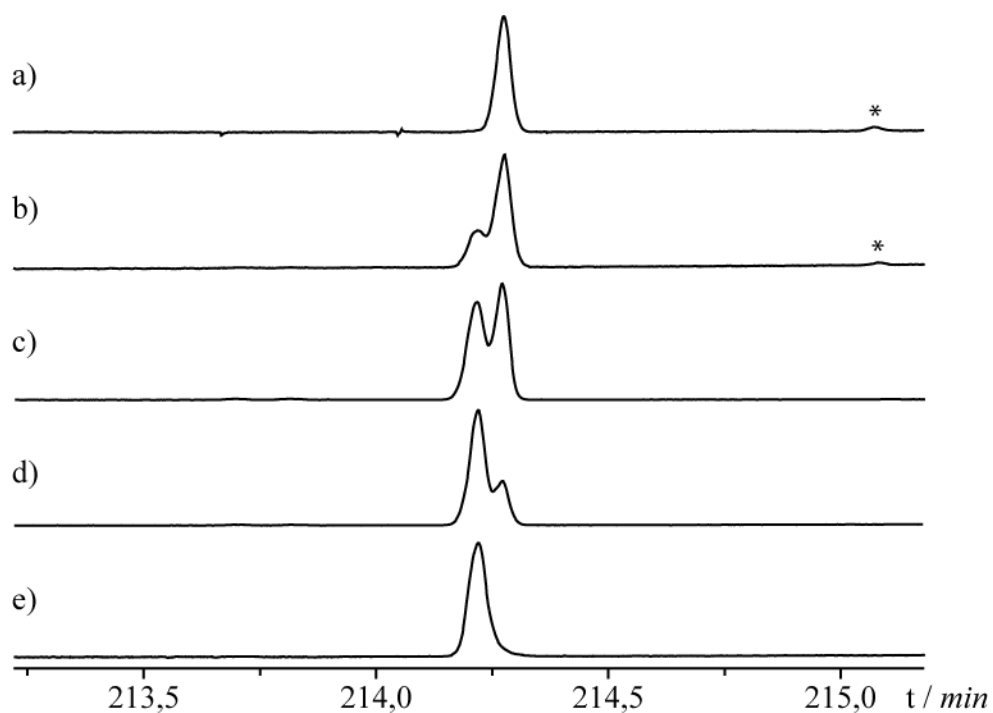
Da das Stereozentrum am C-2 der 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure in (*R*)-Konfiguration vorlag, wurden für die Untersuchung der Stereochemie am C-6 (2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**114**) als racemische und (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**115**) als enantiomerenreine Vergleichssubstanz synthetisiert. Der Ester **114** wurde durch Veresterung der

korrespondierenden (2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**112**) mit Diazomethan (im Mikromaßstab durchgeführt) erhalten.<sup>[30]</sup> Die Darstellung der Säure **112** erfolgte analog der bereits beschriebenen Synthese des (2*S*,6*RS*)-Isomers **111**, wobei aber (*R*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon als chirales Auxiliar verwendet wurde (Abb. 4-27). (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**115**) wurde anhand der selben Synthesestrategie wie **114** dargestellt, dabei wurde die Stereochemie am C-6 durch die Verwendung eines enantiomerenreinen Edukts, (*S*)-Citronellylbromid (**100**), kontrolliert.

Da eine Enantiomerentrennung mit zunehmendem Abstand zwischen dem Stereozentrum und der funktionellen Gruppe (hier Ester bzw. Säure) schwieriger wird, war die Trennung der C-6 Epimeren von **114** ein großes Problem. Dieses konnte schließlich durch Verwendung einer langen Säule (50 m), belegt mit 2,3-Di-*O*-pentyl-6-*O*-methyl- $\gamma$ -cyclodextrin (Lipodex G), unter isothermen Bedingungen gelöst werden (Abb. 4-29). Hier scheinen die größeren Hohlräume der auf  $\gamma$ -Cyclodextrin basierenden stationären Phase im Vergleich zu den beiden anderen chiralen GC-Säulen mit  $\beta$ -Cyclodextrin als Grundlage eine Rolle zu spielen. Ein schnelles Aufheizen am Ende des Heizprogramms führte zur raschen Elution der während der isothermen Phase getrennten Enantiomere. Dies ergab eine schmale Peakform und damit eine verbesserte Separation.

Interessanterweise war unter den genannten Bedingungen keine Trennung der C-2 Epimeren des 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylesters zu beobachten, sowohl *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester als auch (2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**114**) zeigten im Chromatogramm zwei Peaks, während der ebenfalls hergestellte enantiomerenreine (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**115**) in einem Peak eluierte. Koinjektionen von **114** mit **115** sowie dem natürlichen Methylester lieferten den Beweis, dass es sich bei letzterem um (2*R*,6*S*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester handelt.

Die auf die Konfiguration am C-2 bezogenen Enantiomerenüberschüsse waren bei beiden synthetischen Verbindungen recht hoch, sie lagen für den (2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**114**) bei 94.3 % und den (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**115**) bei 94.4 %. Da bei der Synthese des (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylesters (**115**) das Stereozentrum am C-6 durch Verwendung eines chiralen Edukts, (*S*)-Citronellylbromid (**100**), eingeführt wurde, war das Produkt enantiomerenrein (ee = 100.0 %) bezüglich seiner Konfiguration an diesem Kohlenstoffatom.

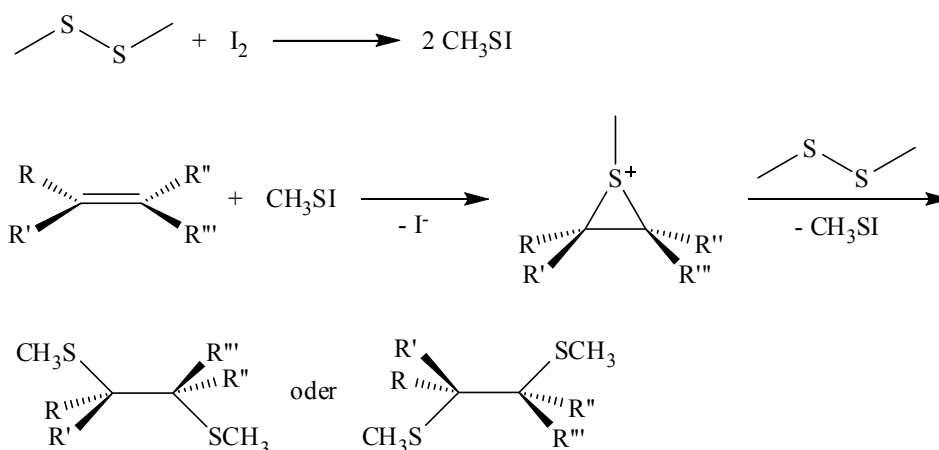


**Abb. 4-29:** Gaschromatographische Untersuchung des Stereozentrums am C-6 von 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester an chiraler Phase (Lipodex G; Heizprogramm: 90 °C, 210 Minuten isotherm, dann 20 °C/Min. bis 200 °C). a) Umgeesterte Naturprobe (Probe 2); b) Koinjektion der umgeesterten Naturprobe mit (2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**114**); c) **114**; d) Koinjektion von **114** und (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (**115**); e) **115**. \* = Verunreinigung.



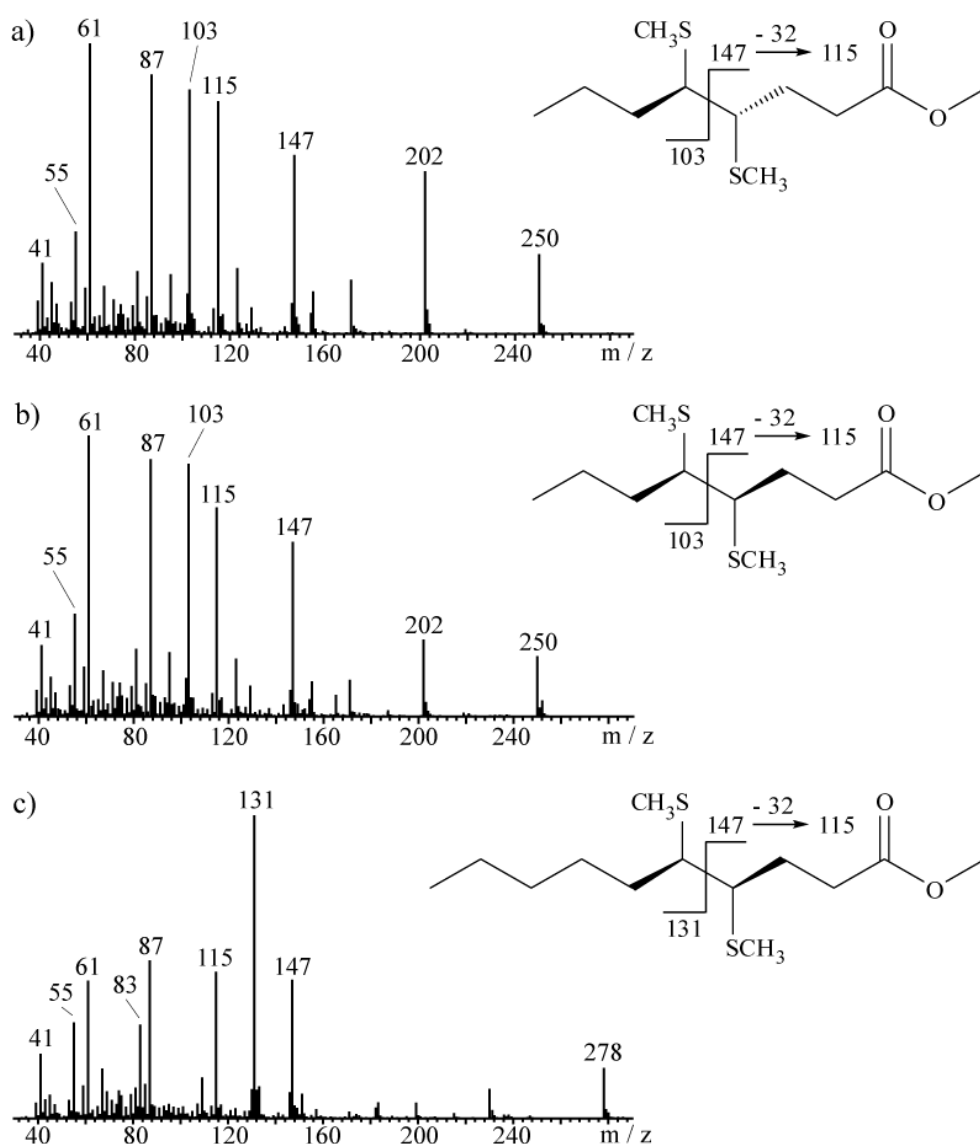
### 4.3 Derivatisierungen mit Dimethyldisulfid (DMDS)

Die Umsetzung ungesättigter Verbindungen mit Dimethyldisulfid (DMDS) in Gegenwart von Iod führt zu charakteristischen Additionsprodukten. Dabei wird an jedes Kohlenstoffatom, das zuvor Teil einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung war, eine Thiomethyl-Gruppe addiert. Es handelt sich um eine hoch stereoselektive *trans*-Addition, die relative Anordnung der Substituenten an der Doppelbindung bleibt erhalten (**Abb. 4-30**). Da der Bruch der Einfachbindung zwischen den beiden schwefelsubstituierten Kohlenstoffatomen energetisch stark begünstigt ist, ermöglicht die Zuordnung der entsprechenden Peaks im Massenspektrum die Bestimmung der Position der derivatisierten Doppelbindungen.<sup>[62]</sup>



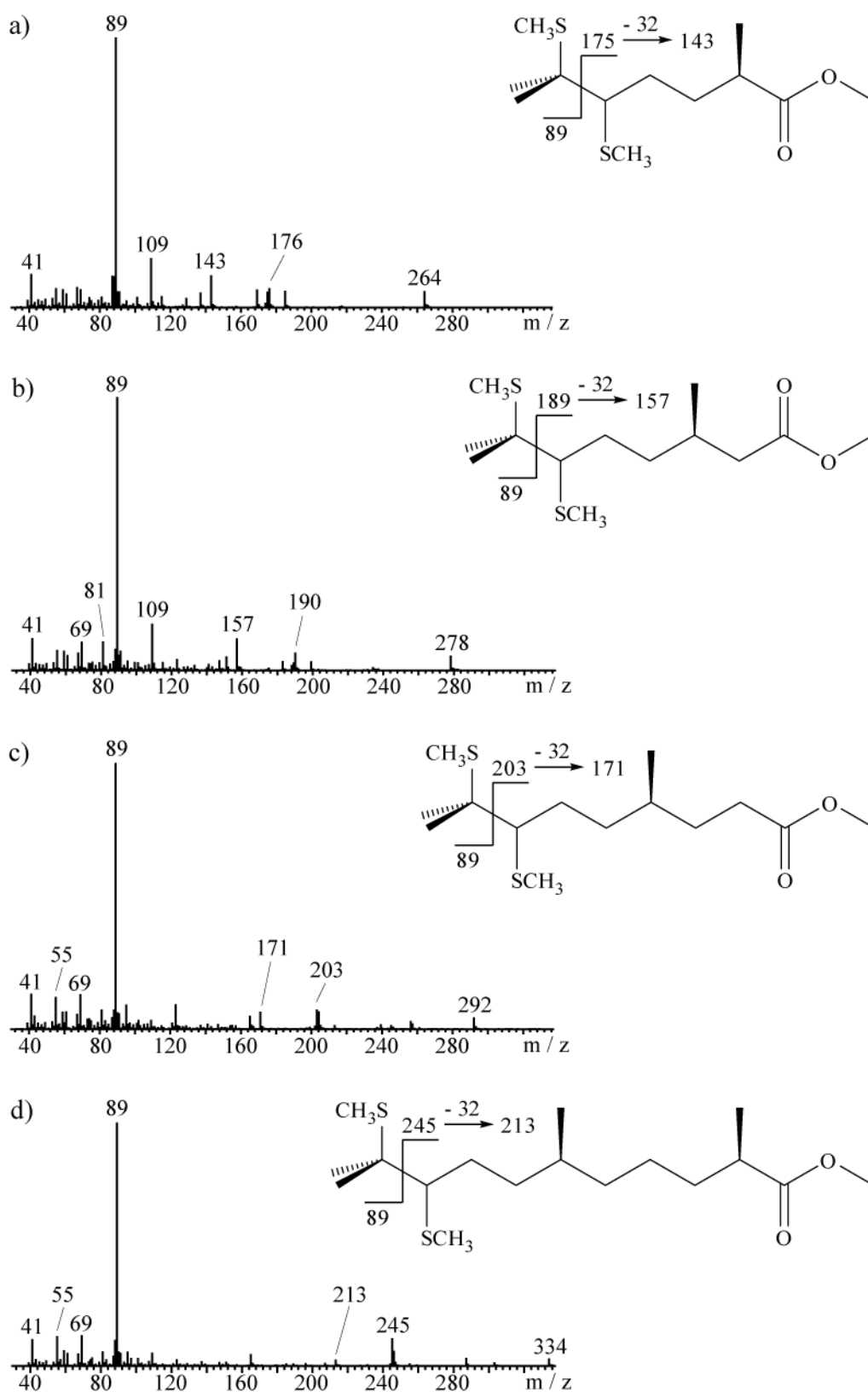
**Abb. 4-30:** Mechanismus der Derivatisierung mit Dimethyldisulfid.

Die Durchführung einer Reihe von DMDS-Derivatisierungen sowie eine erneute Betrachtung älterer Daten<sup>[25]</sup> bestätigte die Ergebnisse der Strukturaufklärungen. Die GC/MS-Untersuchung der Derivate zeigte für alle sieben einfach ungesättigten Fettsäuremethylester die erwarteten Addukte. Bei den drei unverzweigten Estern (*Z*)- und (*E*)-4-Octensäuremethylester sowie (*Z*)-4-Decensäuremethylester wies das Massenspektrum der DMDS-Addukte neben einem deutlichen  $\text{M}^+$ -Peak die beiden aus der Spaltung der aktivierten Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung resultierenden Fragmente auf, wobei die Intensität desjenigen mit der Esterfunktion schwächer war. Ein weiterer charakteristischer Peak im Massenspektrum entsprach der Abspaltung von Methanol aus dem Methylester-Fragment (**Abb. 4-31**).



**Abb. 4-31:** Massenspektren der DMDS-Addukte der einfach ungesättigten unverzweigten Methylester. a) (*E*)-4-Octensäuremethylester; b) (*Z*)-4-Octensäuremethylester; c) (*Z*)-4-Decensäuremethylester.

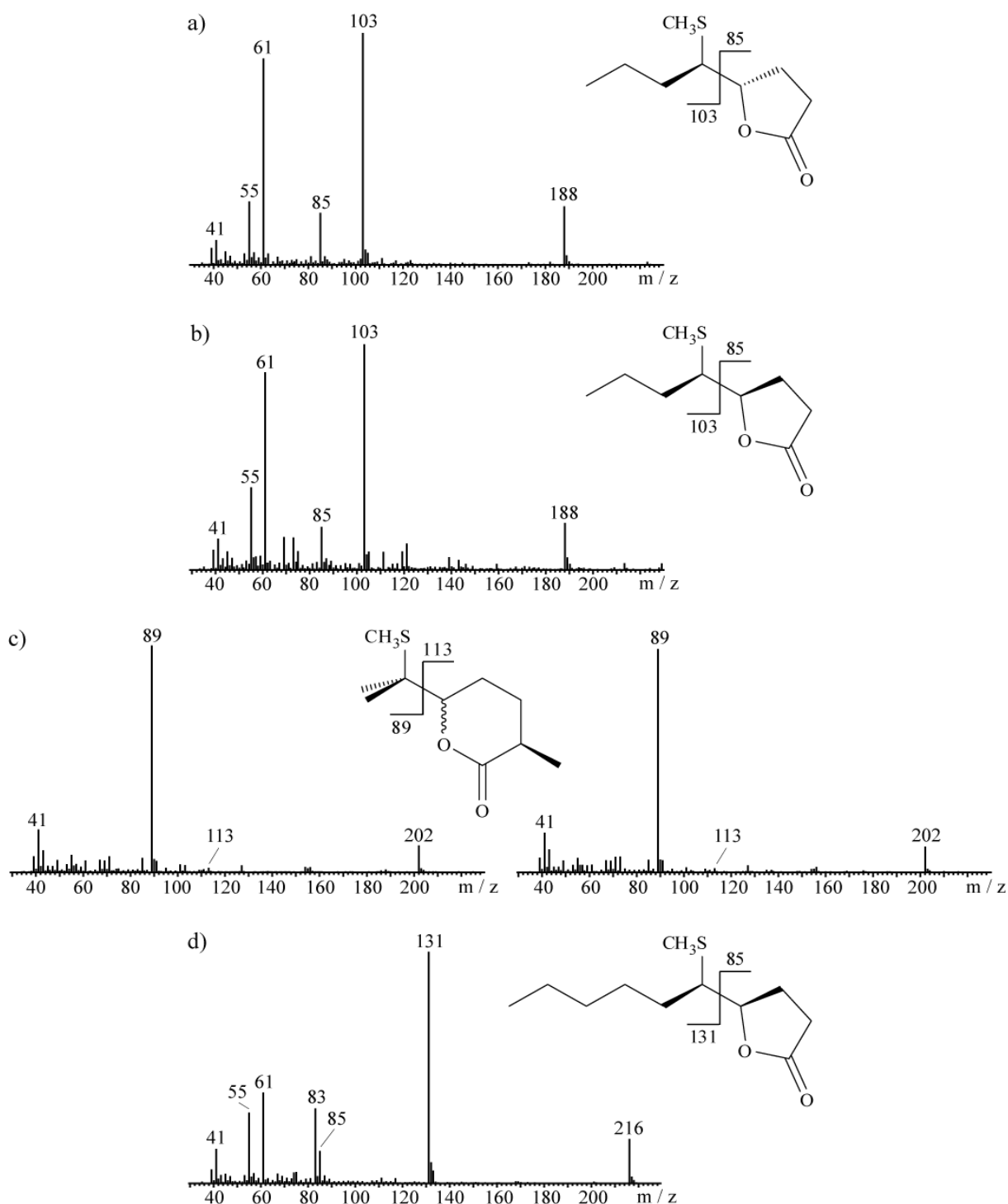
Die DMDS-Addukte der terpenartig verzweigten Ester (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**), (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**78**), (*R*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäuremethylester und (*2R,6S*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester zeigten ein ähnliches Verhalten. Der  $M^+$ -Peak war hier kleiner, aber noch deutlich erkennbar. Der Bruch der schwefelsubstituierten Bindung führte zu einem charakteristischen Fragment mit  $m/z = 89$  ( $[(CH_3)_2CHSCH_3]^+$ ), das in allen vier Spektren der Basispeak war. Daneben lag mit deutlich geringerer Intensität das Methylester-Fragment (begleitet von Methylester-Fragment + 1) vor. Auch hier konnte die Abspaltung von Methanol aus der Ester-Funktion beobachtet werden (**Abb. 4-32**).



**Abb. 4-32:** Massenspektren der DMDS-Addukte der einfach ungesättigten verzweigten Methylester. a) (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**); b) (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**78**); c) (*R*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäuremethylester; d) (*2R,6S*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester.

Vier der einfach ungesättigten Methylester ((*E*)-4-Octensäuremethylester, (*Z*)-4-Octensäuremethylester, (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**) und (*Z*)-4-Decensäuremethylester) lieferten zudem lactonisierte Produkte mit nur einer Thiomethylgruppe. Dabei handelte es sich um diejenigen Verbindungen, die einen fünf- oder sechsgliedrigen Lactonring ausbilden konnten, die deutlich instabileren größeren Ringe konnten nicht beobachtet werden. Es wäre ebenfalls möglich, dass die Lactone nicht aus den Estern, sondern aus den entsprechenden freien Säuren, die im nicht vollständig methylierten Naturextrakt enthalten waren, entstanden sind. Auch bei diesen Derivaten konnte die Abspaltung des Alkylsubstituenten am Lactonring zur Bestimmung der Doppelbindungsposition herangezogen werden, das zugehörige Fragment war in allen vier Massenspektren der Basispeak. Daneben war der  $M^+$ -Peak und mit relativ geringer Intensität das Lactonring-Fragment vorhanden (**Abb. 4-33**).

In den Gaschromatogrammen der drei derivatisierten Naturproben (Probe 2, 3 und 4) (**Abb. 9-1 – Abb. 9-3** im Anhang) zeigte sich, dass die Lactone deutlich geringere Retentionszeiten aufwiesen als die entsprechenden offenkettigen Verbindungen. Ein Vergleich der Derivate der Konfigurationsisomere (*E*)-4-Octensäuremethylester und (*Z*)-4-Octensäuremethylester ergab, dass das lactonisierte Produkt des *E*-Isomers vor demjenigen des *Z*-Isomers eluierte, während die Reihenfolge bei den offenkettigen DMDS-Addukten umgekehrt war. Der verzweigte Methylester **72** lieferte zwei (im Chromatogramm vollständig voneinander getrennte) diastereomere Lactone sowie zwei diastereomere offenkettige Derivate, die nur teilweise getrennt werden konnten. In beiden Fällen kann die Entstehung der Diastereomere durch die Stereoselektivität der DMDS-Addition erklärt werden.



**Abb. 4-33:** Massenspektren der lactonisierten DMDS-Derivate der einfach ungesättigten Methylester. a) (*E*)-4-Octensäuremethylester; b) (*Z*)-4-Octensäuremethylester; c) Diastereomer 1 und 2 von (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**); d) (*Z*)-4-Decensäuremethylester.

Die Identifizierung der DMDS-Derivate der drei zweifach ungesättigten Methylester (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**51**), (4*Z*,7*Z*)-4,7-Decadiensäuremethylester (**60**) und

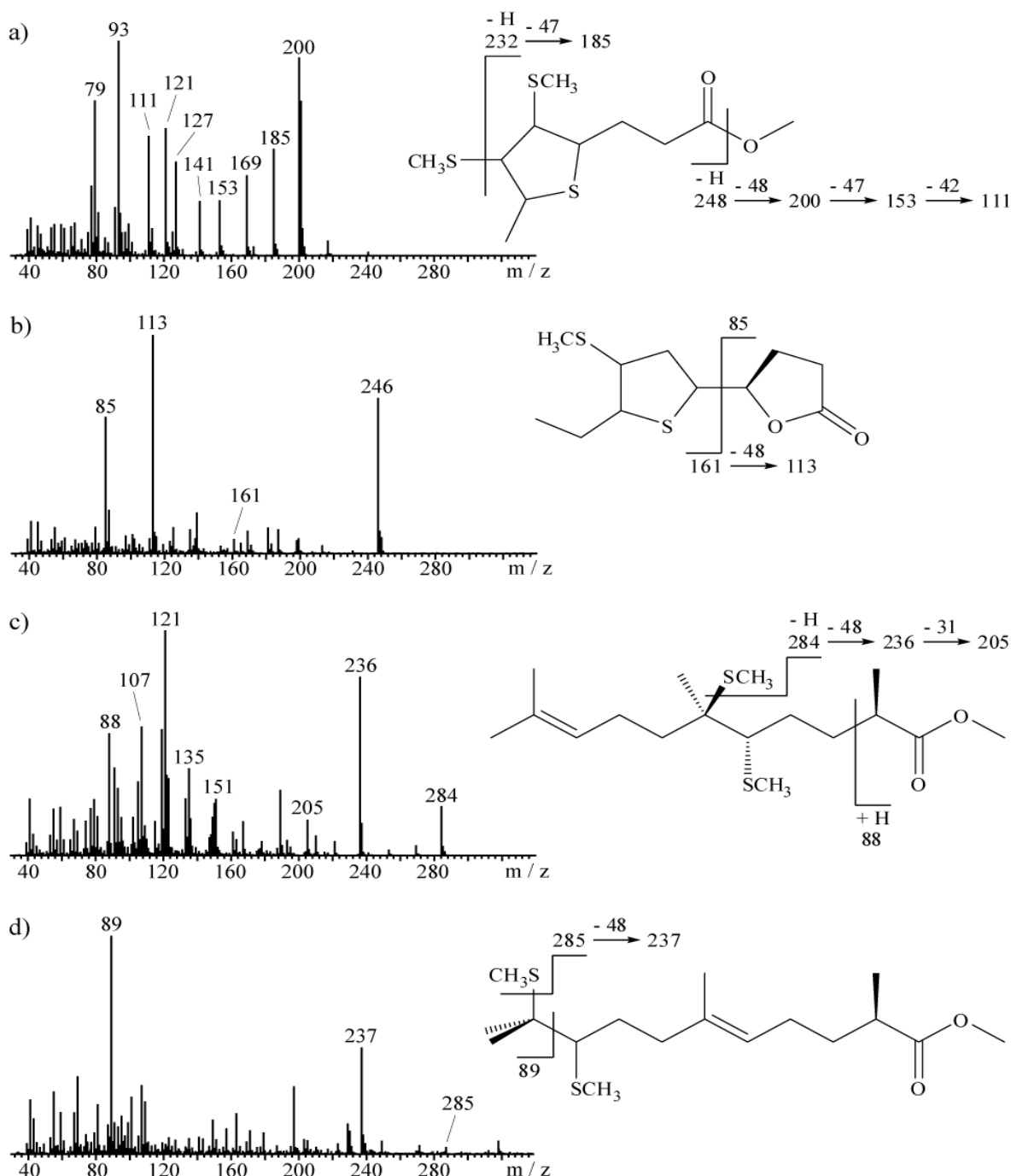
(*R,E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester war deutlich schwieriger, da hier neben direkten Additionsprodukten auch cyclische Thioether-Derivate auftreten konnten; außerdem bestand die Möglichkeit, dass nur eine Doppelbindung in der gewünschten Weise reagierte. Die genaue Zusammensetzung des Produktgemischs hing neben der Struktur der derivatisierten Verbindung von den gewählten Reaktionsbedingungen ab.<sup>[63, 64, 65]</sup> Um die Zuordnung der Derivate zu vereinfachen, wurden daher zusätzlich zu den Naturproben auch Proben der zuvor synthetisierten Ester **51**, **60** und (*EZ*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester mit DMDS umgesetzt.

Der Vergleich der GC/MS-Daten zeigte, dass **51** unter den hier eingesetzten Reaktionsbedingungen einen fünfgliedrigen cyclischen Thioether bildete. Der Tetrahydrothiophenring trug dabei vier Substituenten: eine 2-Carboxymethyl-ethyl-Gruppe, eine Methylgruppe und zwei Thiomethylgruppen. Wie bereits in der Literatur beschrieben, waren im Massenspektrum keine charakteristischen Fragmente zu beobachten, die eine Bestimmung der Position der Doppelbindungen ermöglichten. Das Spektrum wurde durch die Abspaltung der beiden Thiomethylgruppen sowie von CH<sub>3</sub>OH aus der Methylestergruppe bestimmt, die Reihenfolge der Fragmentierung variierte dabei (**Abb. 4-34 a**). Dieses massenspektrometrische Verhalten konnte als Hinweis auf das Vorliegen konjugierter Doppelbindungen gewertet werden.

Das Massenspektrum des DMDS-Derivats von **60** unterschied sich hiervon deutlich: Neben einem M<sup>+</sup>-Peak mit hoher Intensität traten nur zwei charakteristische Fragmente mit *m/z* = 85 bzw. 113 auf. Dies ließ darauf schließen, dass zum einen analog zum einfach ungesättigten Methylester (*Z*)-4-Decensäuremethylester eine Lactonisierung erfolgt ist. Zum anderen kam es wie bei **51** zur Bildung eines Tetrahydrothiophenrings, der in diesem Falle nur drei Substituenten trug: den fünfgliedrigen Lactonring, eine Ethylgruppe sowie eine Thiomethylgruppe. Der Bruch der Einfachbindung zwischen den beiden Ringen war offensichtlich energetisch bevorzugt, anschließend kam es bei dem Fragment, das die Thioether-Funktion enthielt, zur Abspaltung von HSCH<sub>3</sub> (**Abb. 4-34 b**).

Bei den DMDS-Derivaten des 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylesters war die Identifizierung der Produkte am schwierigsten. Anhand der Massenspektren war davon auszugehen, dass jeweils nur eine der beiden Doppelbindungen in der gewünschten Weise reagiert hat. Die Spektren beider Derivate zeigten kein M<sup>+</sup>-Ion. Die beobachtete Fragmentierung konnte durch die aufeinanderfolgende Abspaltung der beiden Thiomethylgruppen sowie im Falle des an der Doppelbindung zwischen C-5 und C-6 derivatisierten Esters von CH<sub>3</sub>O erklärt werden. Dieses Derivat lieferte zudem ein Fragment mit *m/z* = 88,

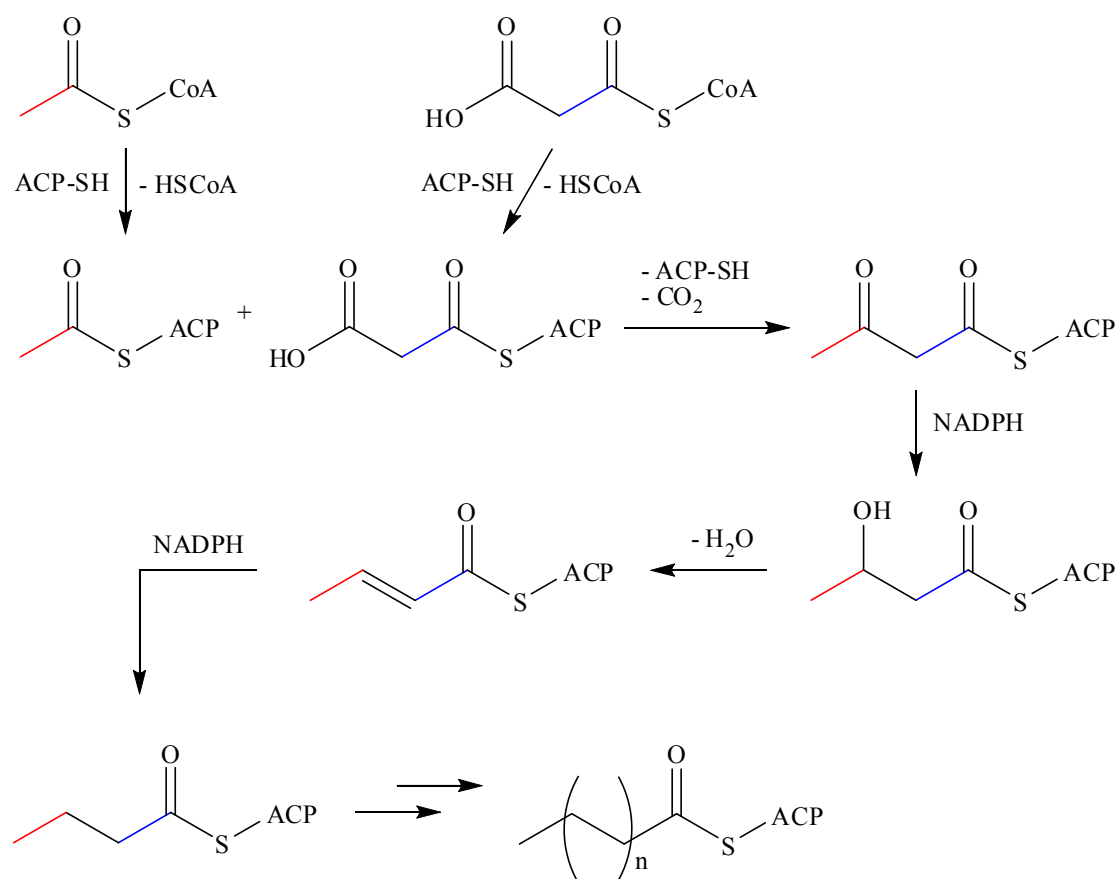
das einer McLafferty-Umlagerung der Esterfunktion zugeordnet werden konnte (**Abb. 4-34 c**). Das andere Derivat zeigte ein charakteristisches Fragment mit  $m/z = 89$  ( $[(\text{CH}_3)_2\text{CHSCH}_3]^+$ ), das durch den Bruch der durch die beiden Thiomethylgruppen aktivierten Kohlenstoff-Kohlenstoff-Einfachbindung zustande kam (**Abb. 4-34 d**).



**Abb. 4-34:** Massenspektren der DMDS-Derivate der zweifach ungesättigten Methylester. a) (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**51**); b) (4*Z*,7*Z*)-4,7-Decadiensäuremethylester (**60**); 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester: c) Derivat 1; d) Derivat 2.

## 4.4 Biosynthetische Überlegungen

Die Grundbausteine der Fettsäurebiosynthese sind Acetyl-CoA und Malonyl-CoA (das durch enzymatische Carboxylierung von Acetyl-CoA gebildet wird). Der Aufbau der Fettsäurekette erfolgt an einem Multienzymkomplex (**Abb. 4-35**): Zunächst werden die Ausgangsbausteine auf Acylcarrierproteine (ACP) übertragen. Dann wird eine Acetylgruppe an die als Startpunkt dienende Malonylgruppe addiert, wobei  $\text{CO}_2$  abgespalten wird. Das so entstandene Acetoacetyl-ACP wird im nächsten Schritt zu 3-Hydroxybutyryl-ACP reduziert, das dann unter Wasserabspaltung zu Crotonyl-ACP umgesetzt wird. Eine weitere Reduktion liefert schließlich Butyryl-ACP. Dieses ist dann das Edukt für eine weitere Reaktionsfolge aus Addition, Reduktion, Dehydratisierung und erneuter Reduktion; in jedem Zyklus wird die Kohlenstoffkette um zwei Atome verlängert. Wenn die gewünschte Kettenlänge erreicht ist, wird die Fettsäure hydrolytisch vom Enzymkomplex abgespalten. Es entstehen gesättigte Verbindungen mit einer geraden Kohlenstoffanzahl.<sup>[1]</sup>



**Abb. 4-35:** Fettsäurebiosynthese.

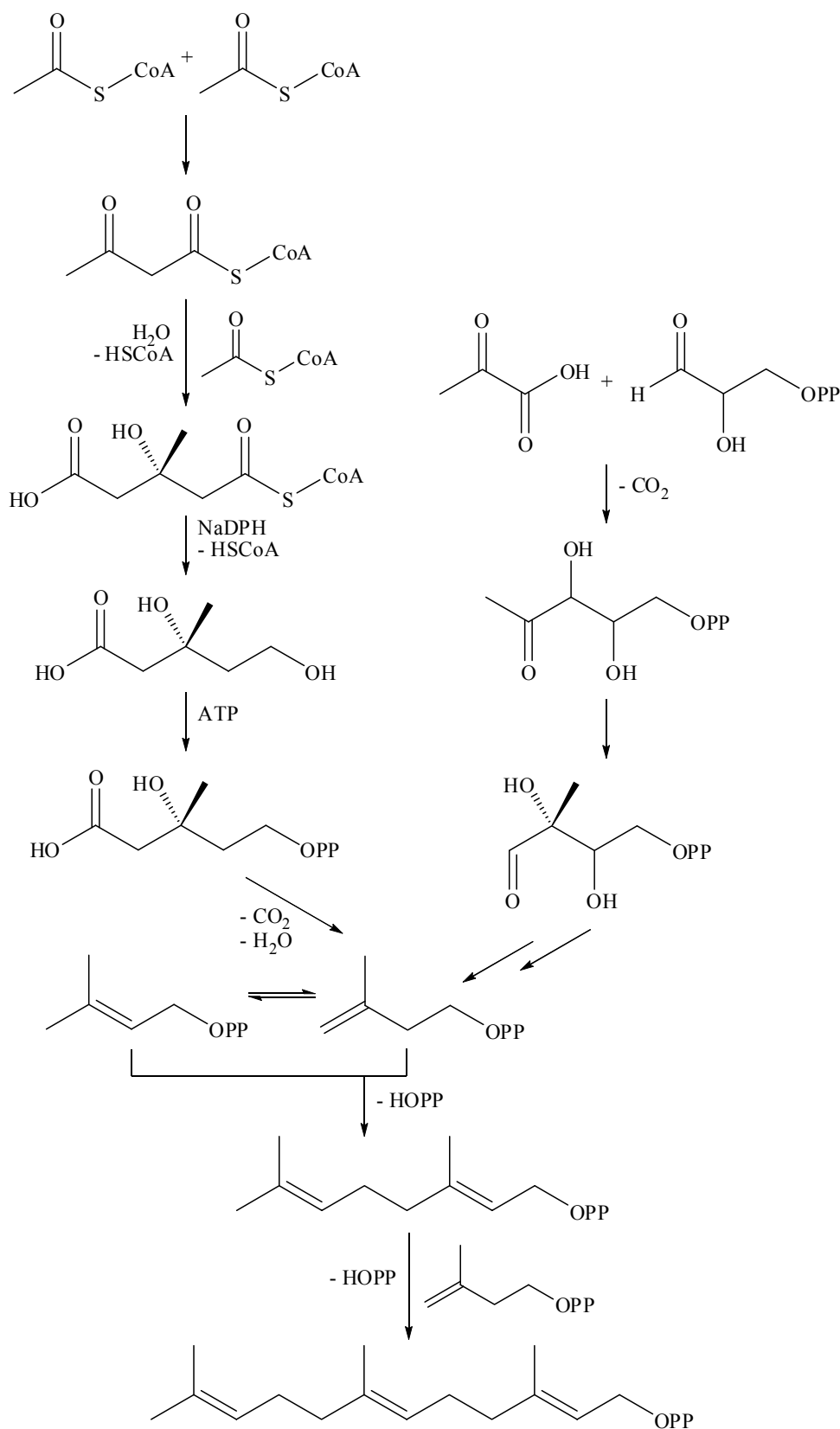


Einzelne Doppelbindungen werden durch enzymatische Dehydrierung eingeführt, mehrfach ungesättigte Fettsäuren sind für Säugetiere essentiell und können nur von Pflanzen hergestellt werden. Der Fettsäureabbau erfolgt oxidativ. Meist werden jeweils zwei Kohlenstoffatome unter Freisetzung von Acetyl-CoA abgespalten ( $\beta$ -Oxidation, Umkehr der Fettsäurebiosynthese), aber auch die Abspaltung einzelner Kohlenstoffatome ist möglich ( $\alpha$ -Oxidation).<sup>[1]</sup>

Alle sechs in den natürlichen Triacylglyceriden nachgewiesenen unverzweigten Fettsäuren besitzen eine gerade Anzahl von Kohlenstoffatomen, was mit dem in **Abb. 4-35** abgebildeten Biosyntheseweg übereinstimmt. Für zwei der ungesättigten Verbindungen, (Z)-4-Decensäure (**24**) und (4Z,7Z)-4,7-Decadiensäure (**130**), kann zudem die Lage der Doppelbindungen durch  $\beta$ -Oxidation der in der Natur häufig auftretenden Fettsäuren Linol- (**11**) und Linolensäure (**12**) erklärt werden. Da sich aber auch bei drei weiteren Säuren, (E)- und (Z)-4-Octensäure (**22**) und (**23**) sowie (4E,6Z)-4,6-Octadiensäure (**50**), eine Doppelbindung zwischen C-4 und C-5 befindet, besteht auch die Möglichkeit, dass *Sphenodon punctatus* über ein Enzym verfügt, das eine Unsättigung in dieser Position in die Fettsäurekette einführen kann. Die einzige Auffälligkeit stellt das konjugierte Doppelbindungssystem von **50** dar, über die Entstehung der zweiten Unsättigung zwischen C-6 und C-7 kann nichts ausgesagt werden.

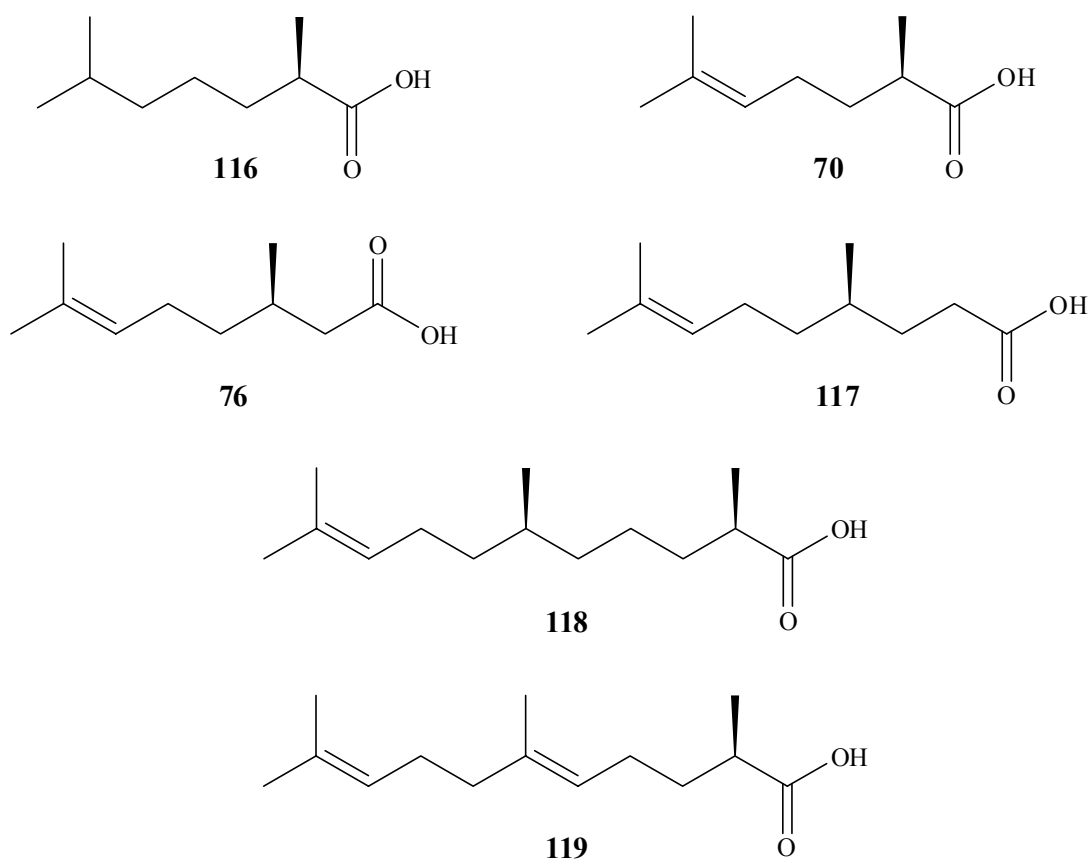
Terpenoide Fettsäuren können über den Mevalonat-Weg (linker Teil von **Abb. 4-36**) gebildet werden.<sup>[66]</sup> Dabei entsteht im ersten Schritt aus zwei Molekülen Acetyl-CoA in einer der CLAISEN-Reaktion ähnlichen Kupplung Acetoacetyl-CoA. Im nächsten Schritt wird ein weiteres Molekül Acetyl-CoA unter Bildung von  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl-CoA addiert, eine nachfolgende Reduktion führt zur (R)-Mevalonsäure. Diese wird phosphoryliert und reagiert unter Decarboxylierung und Dehydratisierung zum Isopentenylpyrophosphat weiter, das dann unter Enzymkatalyse zum  $\gamma,\gamma$ -Dimethylallylpyrophosphat isomerisieren kann. Die Kupplung dieser beiden Verbindungen liefert Geranylpyrophosphat als Monoterpen-Ausgangsstoff. Durch Addition eines weiteren Moleküls Isopentenylpyrophosphat entsteht Farnesylpyrophosphat mit Sesquiterpen-Grundgerüst. Isopentenylpyrophosphat kann auch über einen anderen Biosyntheseweg, den 1-Desoxypentulose-5-phosphat-Weg, gebildet werden (rechter Teil von **Abb. 4-36**).<sup>[66]</sup> Dabei entsteht aus der Addition von Pyruvat an Glyceraldehyd-3-phosphat das 1-Desoxypentulose-5-phosphat, das in mehreren Schritten zum Isopentenylpyrophosphat weiterreagiert. Durch Kettenabbau mittels  $\alpha$ - und/oder  $\beta$ -Oxidation können aus den bei der Biosynthese produzierten Mono- und Sesquiterpenen kürzerkettige Verbindungen gebildet werden. Ebenso ist eine Verminderung der Anzahl von

Doppelbindungen durch Reduktion möglich. Die dabei entstehenden stereogenen Zentren an den Methylverzweigungen des Terpengerüsts liegen gewöhnlich in *D*-Konfiguration vor.



**Abb. 4-36:** Terpenbiosynthese: Mevalonat- und 1-Desoxyxylulose-5-phosphat-Weg.

Die Strukturen aller in den Naturproben nachgewiesenen terpenartigen Fettsäuren (**Abb. 4-37**) sind mit den bekannten Biosynthesewegen erklärbar. (*R,E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (**119**) kann durch  $\alpha$ -Oxidation des Sesquiterpengrundgerüsts gebildet werden, Reduktion von **119** liefert (2*R*,6*S*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**118**). Eine  $\beta$ -Oxidation von **118** führt zur (*R*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (**117**). (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäure ((*R*)-Citronellsäure) (**76**) verfügt über ein Monoterpengerüst,  $\alpha$ -Oxidation von **76** ergibt (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**70**), die zur (*R*)-2,6-Dimethylheptensäure (**116**) reduziert werden kann. Die Untersuchung der natürlichen Verbindungen mit chiraler Gaschromatographie zeigte, dass alle methylverzweigten Fettsäuren enantiomerenrein vorlagen, was im Einklang mit biosynthetischen Überlegungen steht. Fast alle Säuren waren (*R*)-konfiguriert, lediglich das Stereozentrum am C-6 der 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**118**) wies eine (*S*)-Konfiguration auf. Dies entspricht in allen Fällen der erwarteten *D*-Konfiguration.



**Abb. 4-37:** Konfiguration der Stereozentren der sechs methylverzweigten Fettsäuren

## 4.5 Fettsäurezusammensetzung der untersuchten Sekretproben

Bei den im Rahmen dieser Arbeit genauer untersuchten Fettsäuren handelte es sich um diejenigen, die in größerer Menge in den Sekretproben nachgewiesen werden konnten. Daneben lagen noch einige Verbindungen in geringeren Konzentrationen vor. Dabei handelte es sich bevorzugt um gesättigte, zum Teil auch einfach ungesättigte unverzweigte Fettsäuren. Einen Überblick über die Zusammensetzung der Proben gibt **Tabelle 4-6**.

Die untersuchten Cloacaldrüsensekrete unterschieden sich voneinander sowohl in der Anzahl und Struktur der jeweils in den Triacylglyceriden enthaltenen Fettsäuren als auch in den Mengen der einzelnen Säuren. In fünfzehn von neunzehn Naturproben waren alle zwölf hier genauer betrachteten Fettsäuren enthalten.

Dreizehn der Sekretproben konnten männlichen Tieren zugeordnet werden (Proben 1 – 3, 5, 7 – 12 und 17 – 19), zwei weiblichen Tieren (Proben 4 und 13), bei den übrigen war das Geschlecht nicht bekannt. Es zeigte sich, dass es keinen Zusammenhang zwischen dem Auftreten oder der Menge bestimmter Säuren und dem Geschlecht eines Individuums gab. Auffällig war jedoch, dass das Fettsäureprofil des Sekrets, das von einem bestimmten Tier zu verschiedenen Zeitpunkten entnommen wurde („Big Guy“: Proben 1, 2, 8 und 9 im Mai 2002, Probe 19 im Juli 2004; „Gans“: Proben 3, 10 und 11 im Mai 2002, Probe 17 im Juli 2004; „Old Man“: Probe 12 im Mai 2002, Probe 18 im Juli 2004), beinahe identisch war. Dies spricht dafür, dass die Zusammensetzung des Cloacaldrüsensekrets eine charakteristische Eigenschaft einer jeden Brückenechse ist.

In früheren Untersuchungen wurde bereits nachgewiesen, dass die Fettsäurezusammensetzung der Plasmalipide von *Sphenodon punctatus* von der Ernährung der Tiere abhängig ist.<sup>[67]</sup> Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Zusammensetzung des Cloacaldrüsensekrets von Krokodilen von den Umgebungsbedingungen der Tiere beeinflusst wird.<sup>[68]</sup> Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Sekretproben stammten aus drei verschiedenen Tierparks in den USA. Dies könnte zu einer Variation des Fettsäureprofils, hervorgerufen durch Unterschiede in der den Brückenechsen jeweils zur Verfügung stehenden Nahrung, geführt haben. Ein derartiger Zusammenhang wurde jedoch nicht gefunden. Es ist allerdings denkbar, dass ein solcher Effekt beim Vergleich der Cloacaldrüsensekrete von wild lebenden *S. punctatus* mit Tieren, die in Gefangenschaft gehalten werden, zu erkennen ist.

**Tabelle 4-6:** Fettsäurezusammensetzung der Sekretproben (bestimmt durch Umesterung mit Natriummethanolat und anschließende GC/MS-Analyse).<sup>1</sup>

RI	Verbindung	Probe																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
893	4-Methylpentansäure	-	-	X	X	XX	XX	X	O	X	X	X	XX	-	X	X	X	X	-	O
936	Hexensäure	-	-	-	-	-	-	-	X	X	X	X	X	-	-	-	-	O	-	X
1022	Heptensäure	-	-	-	-	-	-	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	O	-	O
1028	Heptensäure	-	-	-	O	-	-	X	-	-	-	-	-	-	X	O	O	O	-	O
1115	(E)-4-Octensäure (22)	XX	XX	X	X	XX	X	XX	XX	XX	XX	XX	XX	X	X	XX	X	X	X	X
1118	(Z)-4-Octensäure (23)	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XXXXXX	XXXX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	X	XX	XX	XXX
1124	(R)-2,6-Dimethylheptansäure (116)	XX	XX	X	XXX	XXXXXX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	-	XXX	-	XXX	XX	XX	XX
1131	Octansäure (21)	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XXXXXX	XX	XX	XX	XX
1153	(R)-2,6-Dimethyl-5-heptensäure (70)	XXXXXX	XXXX	X	XX	X	XXXXXX	XXXX	XXXXXX	XXXXXX	XXXXXX	XXXXXX	XXXX	XXX	X	XXX	XX	XXXXXX	XXXX	XXXX
1177	(4Z,6E)-4,6-Octadiensäure	X	O	O	O	O	O	X	X	X	O	O	O	-	O	O	O	O	O	O
1180	(4E,6E)-4,6-Octadiensäure	X	X	X	O	O	O	X	X	X	X	X	X	-	O	O	O	O	X	X
1184	(4E,6Z)-4,6-Octadiensäure (50)	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XXXXXX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX
1188	(4Z,6Z)-4,6-Octadiensäure	X	X	X	X	X	X	X	O	X	X	X	X	-	O	O	X	X	X	X
1217	Nonensäure	-	-	-	-	X	X	O	O	O	O	O	-	-	-	X	X	-	-	-
1224	Nonansäure	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	O	X	X	X
1258	(R)-3,7-Dimethyl-6-octensäure (76)	X	-	XX	XX	XXX	XX	XX	X	X	XX	XX	XX	XX	XXX	XX	XXX	XX	XX	X
1279	3-Phenylpropansäure	O	-	X	X	O	O	O	X	X	X	X	X	-	X	X	O	X	X	O
1304	(Z)-4-Decensäure (24)	XXXXXX	XXX	XX	XX	XXX	XX	XX	XXXXXX	XXXXXX	XXXXXX	XXXX	XXX	-	XX	XX	XX	XXXXXX	XXXX	XXXX
1305	(4Z,7Z)-4,7-Decadiensäure (131)	XX	-	XX	X	X	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	-	X	X	X	XX	XX	XX
1317	Decansäure	X	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X
1366	(R)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (117)	-	-	XX	XXX	XXXXXX	XX	XX	O	X	XX	XX	XX	-	XXX	X	XXX	X	XX	O
1520	Dodecansäure (6)	X	-	X	X	O	X	O	X	X	X	X	X	-	O	O	O	O	-	X
1586	(2R,6S)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (118)	XXXXXX	X	XXX	XXX	XX	XX	XXXXXX	XX	XXXXXX	X	X	XX	XXX	XX	XX	XXX	O	XX	XXX
1600	(R,E)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (119)	XX	XX	XXX	X	XX	XX	X	XX	XX	XXXXXX	XXXXXX	XXXXXX	XXXX	XX	XXX	XX	XXXXXX	XXXX	XX
1712	3,7,11-Trimethyl-6,10-dodecadiensäure	-	-	X	O	O	O	-	O	O	O	O	O	-	O	O	X	O	-	O
1727	Tetradecansäure (7)	X	-	X	X	X	X	O	X	X	X	X	O	-	O	O	O	O	-	O
1827	Pentadecansäure	-	-	-	-	-	-	-	O	O	O	O	-	-	tr.	O	-	O	-	O
1906	(Z)-9-Hexadecensäure	X	-	X	X	X	X	O	X	X	X	X	X	-	X	O	O	O	-	O
1928	Hexadecansäure (8)	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	XX	X	X	X	X	XX
2030	Heptadecansäure	O	-	-	-	-	-	-	O	O	O	O	O	-	O	-	-	-	-	O
2098	(9Z,12Z)-9,12-Octadecadiensäure (11)	XX	XX	X	XX	X	X	X	XX	XX	X	X	X	XX	XX	X	X	X	X	XX
2105	(Z)-9-Octadecensäure (10)	XX	XX	X	XX	X	X	X	X	X	X	X	X	XX	XX	X	X	X	X	X
2112	Octadecensäure	X	-	O	X	X	X	X	X	X	X	X	X	O	-	O	X	O	O	X
2132	Octadecansäure (9)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	tr.	X	X	X	O	X	X

Tabelle 4-6 (Fortsetzung)<sup>1</sup>

RI	Verbindung	Probe																		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
2265	5,8,11,14-Eicosatetraensäure	X	tr.	X	X	X	X	O	X	X	X	X	-	X	X	X	X	O	-	X
2302	Eicosadiensäure	-	-	-	X	-	X	-	O	O	O	O	O	-	-	O	-	O	-	-
2306	Eicosensäure	X	-	-	X	-	O	-	O	O	O	O	O	-	-	O	-	O	-	X
2338	Eicosensäure	O	-	O	X	-	O	-	O	O	O	O	O	-	O	O	O	O	-	O
2429	Heicicosansäure	-	-	O	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	-	-	tr.	-	-
2513	(Z)-13-Docosensäure (13)	O	-	O	-	-	O	-	O	O	O	O	-	O	O	O	O	O	-	O
2538	Docosansäure	-	-	O	-	-	-	-	-	O	O	O	-	-	O	O	O	O	-	-
2711	Tetracosensäure	-	-	-	-	-	-	-	-	O	-	-	-	-	-	-	O	O	-	O
2740	Tetracosansäure	-	-	O	O	-	-	-	-	tr.	-	O	-	-	O	O	O	O	-	-
2812	Squalen	O	-	X	-	-	O	-	O	O	X	X	X	X	X	O	X	X	X	O
2943	Hexacosansäure	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	O	-	-	O	O	-	tr.	-	-

<sup>1</sup> Anteil x der jeweiligen Verbindung an der Gesamtmasse:

XXX: 10.0 % ≤ x

XX: 1.0 % ≤ x < 10.0 %

X: 0.1 % ≤ x < 1.0 %

O: x < 0.1 %

tr.: Spuren

## 4.6 Natürliches Vorkommen der Tuatara-Fettsäuren

Die meisten der zwölf Fettsäuren sind bereits aus der Natur bekannt. Octansäure (**21**) ist weit verbreitet, sie kommt z. B. zusammen mit (Z)-4-Octensäure (**23**) in Guaven (*Psidium guajava*) vor, außerdem wurde sie in Cherimoya (*Annona cherimolia*), Mango (*Mangifera indica*) und Papaya (*Carica papaya*) gefunden.<sup>[69]</sup> Pawpaw (*Asimina triloba*) und gelbe Mombinpflaumen (*Spondias mombin*) enthalten **21** zusammen mit den Methylestern von **21** und **23**.<sup>[70, 71]</sup> diese Ester wurden auch in Teichäpfeln (*Annona glabra*) nachgewiesen.<sup>[72]</sup> Ananas (*Ananas comosus*) enthält die Methylester von **21** und (E)-4-Octensäure (**22**).<sup>[73]</sup> Die terpenoide 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**26**) (mit unbekannter Stereochemie) wurde in Hautextrakten der Löwenmähnenschnecke (*Melibe leonina*) und im Sexualpheromon einer Mistkäferart (*Kheper lamarcki*) entdeckt.<sup>[74, 75]</sup> Das (S)-Isomer von **26** ist die Hauptkomponente des flüchtigen Anteils des Sexualpheromons eines männlichen Mistkäfers (*Kheper subaeneus*).<sup>[51]</sup> Die einfach ungesättigte (Z)-4-Decensäure (**24**) wurde im Analsekret der Insektenart *Holurothrips morikawai* nachgewiesen.<sup>[76]</sup> Der Methylester von **24** ist im Sekret der Sternaldrüsen von männlichen Kapok-Wanzen (*Dysdercus cingulatus*) enthalten,<sup>[77]</sup> in Nashi-Birnen (*Pyrus serotina*) und Blüten von *Michelia champaca* wird er vom Methylester der gesättigten Säure **21** begleitet,<sup>[78, 79]</sup> in Mangos (*Mangifera indica*) vom zweifach ungesättigten (4Z,7Z)-4,7-Decadiensäuremethylester (**60**).<sup>[80]</sup> Der Methylester von **119** ist eine von männlichen Tieren produzierte Sexualpheromon-Komponente der Wanzen *Chlorochroa ligata* und *Chlorochroa uhleri*.<sup>[81]</sup> Die gesättigte unverzweigte Säure **21** ist zudem Bestandteil der Triacylglyceride in Butter und Kokosöl.

(4E,6Z)-4,6-Octadiensäure (**50**) und (R)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (**117**) wurden bislang nicht in natürlichen Quellen nachgewiesen. Während **117** ein teilweise abgebautes Sesquiterpen-Gerüst aufweist, handelt es sich bei **50** um eine unverzweigte, zweifach ungesättigte Verbindung mit einem ungewöhnlichen konjugierten Doppelbindungssystem. Für die Säure **50** wurde der Trivialname Tuatara-Säure vorgeschlagen.<sup>[82]</sup>

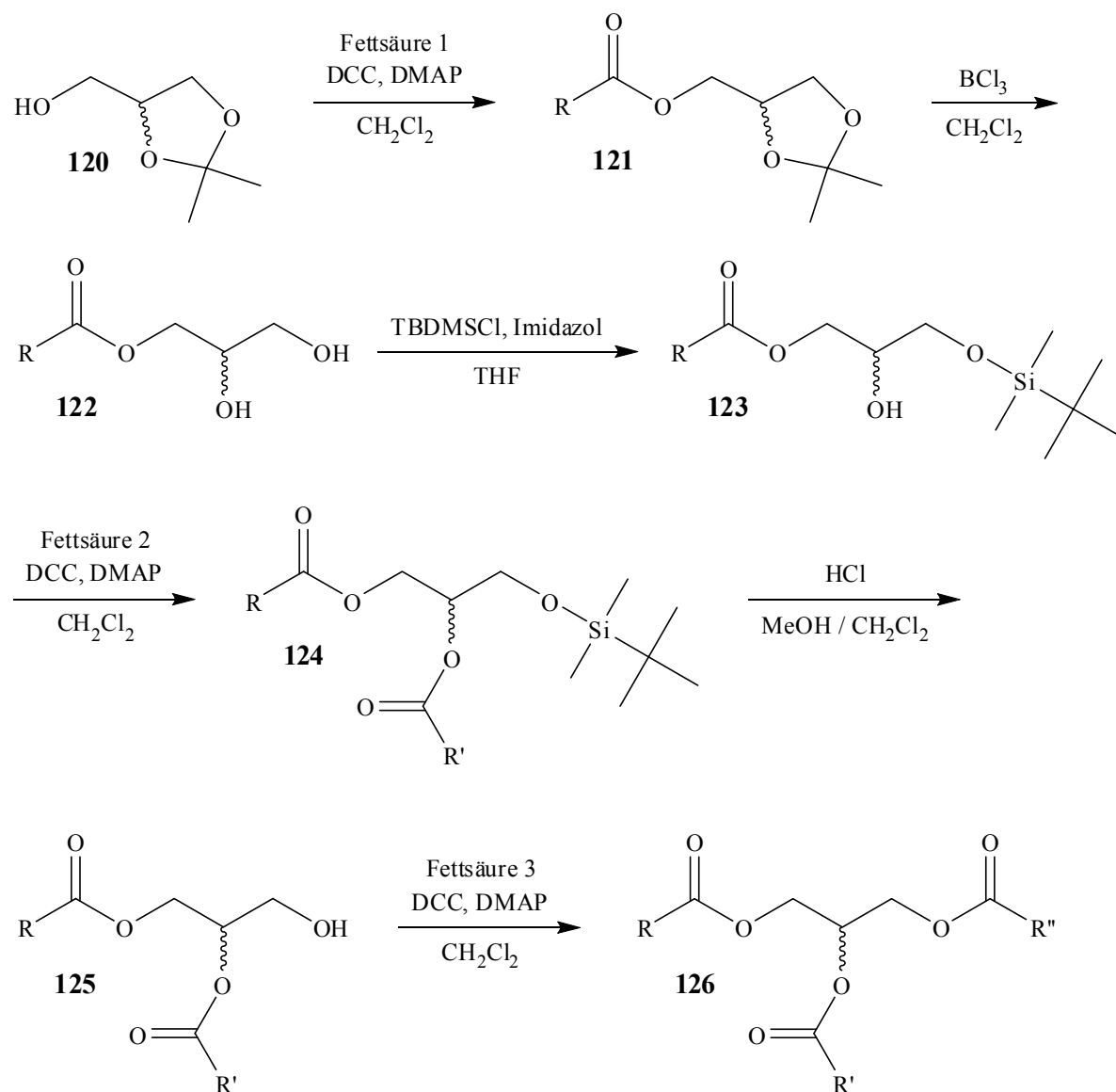
## 5 Untersuchung der Triacylglyceride

Um die chromatographischen und massenspektrometrischen Eigenschaften der Triacylglyceride untersuchen zu können, wurden zunächst Modellverbindungen synthetisiert. Dabei wurden zum einen drei Triacylglyceride mit definierter Fettsäurezusammensetzung dargestellt, zum anderen wurden zwei statistische Synthesen von Triacylglyceridgemischen durchgeführt. Mit diesen Proben wurde eine Strategie zur Auftrennung und Strukturaufklärung der Triacylglyceride entwickelt, die dann auf die Naturproben angewendet wurde.

Die gezielte Synthese der Triacylglyceride **127**, **128** und **129** erfolgte nach der in **Abb. 5-1** dargestellten Synthesestrategie.<sup>[83]</sup> Die Zielmoleküle enthielten jeweils drei verschiedene Fettsäuren, Octansäure (**21**), 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**) und 3,7-Dimethyl-6-octensäure (**75**). Die Säuren wurden so ausgewählt, dass sie sich bezüglich der Anzahl der Doppelbindungen, der Anzahl und Position der Methylverzweigungen sowie der Masse unterschieden und zudem leicht zugänglich waren. Die Konfiguration der Stereozentren wurde dabei nicht beachtet, alle für die Synthese eingesetzten Edukte lagen in racemischer Form vor. Die Synthese begann mit der Veresterung von 2,2-Dimethyl-4-hydroxymethyl-1,3-dioxolan (**120**) mit einer der Fettsäuren. Dann wurde die Acetal-Schutzgruppe des Produktes **121** abgespalten und die primäre Hydroxyfunktion des Monoacylglycerids **122** selektiv als Silylether geschützt. Die Addition einer zweiten Fettsäure an die freie Hydroxygruppe von **123** lieferte das silylgeschützte Diacylglycerid **124**. Nach Entfernung der Silylschutzgruppe wurde die Hydroxyfunktion von **125** mit einer dritten Fettsäure zum Triacylglycerid **126** umgesetzt.

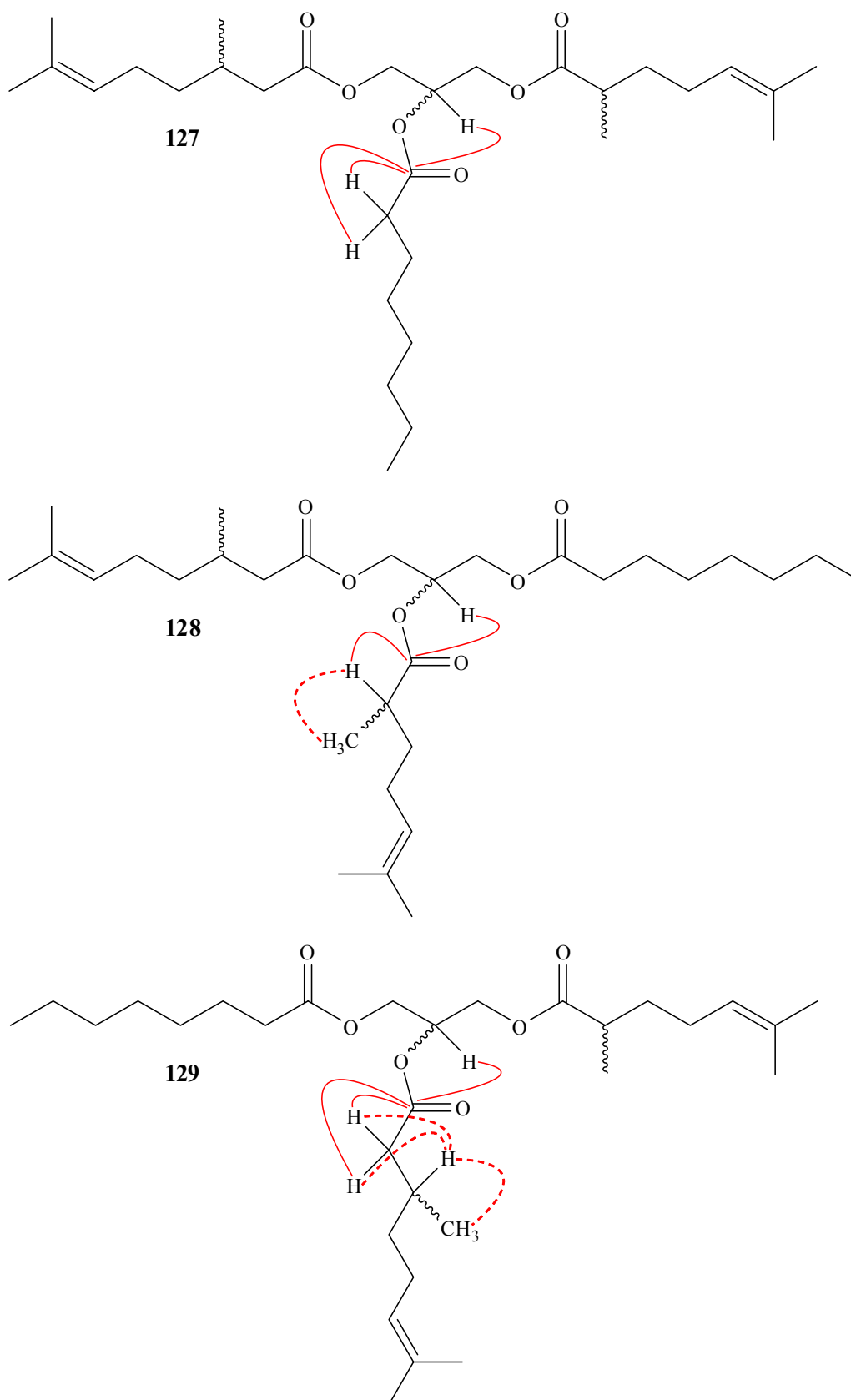
Grundsätzlich ist nach diesem Syntheschema auch die enantioselektive Darstellung von Triacylglyceriden möglich, indem das kommerziell erhältliche enantiomerenreine (*R*)- oder (*S*)-2,2-Dimethyl-4-hydroxymethyl-1,3-dioxolan mit enantiomerenreinen Säuren umgesetzt wird. Dies wurde jedoch im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht durchgeführt.





**Abb. 5-1:** Gezielte Synthese von Triacylglyceriden als Modellverbindungen.

Die Position der einzelnen Fettsäuren im Molekül war durch die Reaktionsführung vorgegeben. Sie wurde bei allen Synthesen anhand der 2D-NMR-Daten der Produkte überprüft (**Abb. 5-2**).



**Abb. 5-2:** Ausgewählte Kopplungen in den 2D-NMR-Spektren der Triacylglyceride aus der gezielten Synthese. Gestrichelte Linien:  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY; durchgezogene Linien:  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -HMBC.

Es wurden sowohl eindimensionale  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - und  $^{13}\text{C}$ -DEPT-NMR-Untersuchungen als auch zweidimensionale  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY- und HMBC-Experimente durchgeführt. Die CH-Gruppe im Glycerinrückgrat der Triacylglyceride konnte anhand ihrer chemischen Verschiebung sowohl in den  $^1\text{H}$ - als auch in den  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren eindeutig zugeordnet werden. Davon ausgehend ermöglichten die HMBC-Daten eine Korrelation des CH-Protons mit dem Carbonylkohlenstoff der direkt an die CH-Gruppe gebundenen Fettsäure über eine  $^3J\text{-C,H}$ -Kopplung. Um zu bestimmen, um welche Säure es sich hierbei handelte, wurden zunächst die Protonen am C-2 der Säure anhand ihrer  $^2J\text{-C,H}$ -Kopplung mit der Carbonylgruppe zugeordnet. Die Anzahl dieser Protonen sowie die Untersuchung ihrer chemischen Umgebung auf der Grundlage ihrer  $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ - sowie  $^{13}\text{C}$ , $^1\text{H}$ -Kopplungen mit benachbarten Protonen und Kohlenstoffatomen über zwei oder drei (in Einzelfällen vier) Bindungen ergaben dann die Struktur der Fettsäure. Die Resultate der 2D-NMR-Experimente sind in **Tabelle 9-4 – Tabelle 9-6** (im Anhang) zusammengefasst.

Die drei gezielt synthetisierten Modellverbindungen **127**, **128** und **129** wurden sowohl zur Entwicklung von Methoden zur chromatographischen Trennung der in den Naturproben enthaltenen Triacylglyceride als auch zur Untersuchung ihrer massenspektrometrischen Eigenschaften eingesetzt.

Neben den Triacylglyceriden mit definierter Zusammensetzung wurden auch zwei Triacylglyceridgemische mit statistischer Zusammensetzung synthetisiert. Dabei wurde jeweils ein Gemisch von zwei bzw. drei Fettsäuren mit Glycerin unter Zugabe von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und Dimethylaminopyridin (DMAP) in einer Veresterungsreaktion umgesetzt.<sup>[83]</sup> Die Säuren wurden jeweils im Verhältnis 1:1 zueinander verwendet. Sie wurden aus den zwölf als Hauptkomponenten der natürlichen Triacylglyceride identifizierten Fettsäuren ausgewählt, die Konfiguration der Doppelbindungen stimmte jedoch nicht immer mit den natürlichen Verbindungen überein. Alle stereogenen Zentren lagen racemisch vor. Für das erste Gemisch wurden die gleichen drei Säuren wie bei der gezielten Fettsynthese verwendet: Octansäure (**21**), 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**) und 3,7-Dimethyl-6-octensäure (**75**). Das zweite Gemisch enthielt (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäure (**A**) und *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**B**). Die Zusammensetzung der Produktgemische aus den Veresterungen wurde mit Hilfe von GC/MS-Untersuchungen bestimmt, eine Übersicht über die enthaltenen Verbindungen gibt **Tabelle 5-1**. Dabei steht die Bezeichnung **21/69/69** beispielsweise für ein Triacylglycerid, das einmal die Fettsäure **21** und zweimal **69** enthält; die Position der Säuren im Molekül konnte nicht zugeordnet werden.

**Tabelle 5-1:** Analyse der Zusammensetzung der Produktgemische aus den statistischen Triacylglyceridsynthesen mittels GC/MS an unpolarer Phase (BPX-5; Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 10 °C/Min. bis 320 °C). \* = Verbindung konnte im Produktgemisch nicht nachgewiesen werden.

	Säure	M / $g\ mol^{-1}$	$t_{ret} / min$	Anteil [%]
Gemisch 1	<b>69/69/69</b>	506	*	-
	<b>21/21/21</b>	470	*	-
	<b>21/69/69</b>	494	30.11	40.47
	<b>21/21/69</b>	482	30.11	
	<b>69/69/75</b>	520	30.85	41.97
	<b>21/69/75</b>	508	30.85	
	<b>21/21/75</b>	496	30.85	
	<b>69/75/75</b>	534	31.54	15.43
	<b>21/75/75</b>	522	31.54	
	<b>75/75/75</b>	548	32.22	2.12
Gemisch 2	<b>A/A/A</b>	458	31.28	7.84
	<b>A/A/B</b>	544	33.52	37.78
	<b>A/B/B</b>	630	36.90	54.38
	<b>B/B/B</b>	716	*	-

Die Analyse der GC/MS-Daten von Gemisch 1 zeigte, dass es unter den hier gewählten Bedingungen zu Koelutionen von Triacylglyceriden mit ähnlicher Fettsäurezusammensetzung kam. Es war daher nicht möglich, den Anteil jeder einzelnen Verbindung am Produktgemisch zu bestimmen.

Die synthetisierten Triacylglyceridgemische wurden nachfolgend verschiedenen chromatographischen Trennmethode unterzogen.

## 5.1 Chromatographische Trennung eines Gemischs von Triacylglyceriden

Die vollständige Trennung einer komplexen Mischung von Triacylglyceriden ist nicht mit einer einzelnen, sondern nur mit einer Kombination verschiedener chromatographischer Methoden möglich.<sup>[84]</sup> Dies ist darauf zurückzuführen, dass Triacylglyceride die Naturstoffe mit der komplexesten Zusammensetzung bei vergleichbarem Molekulargewicht sind. Die Fettsäuren, aus denen sie sich zusammensetzen, können sich in Kettenlänge, Anzahl der Doppelbindungen und Verzweigungsgrad unterscheiden. Hinzu kommt, dass nur selten drei identische Fettsäuregruppen in einem Molekül auftreten. Da allen Triacylglyceriden jedoch

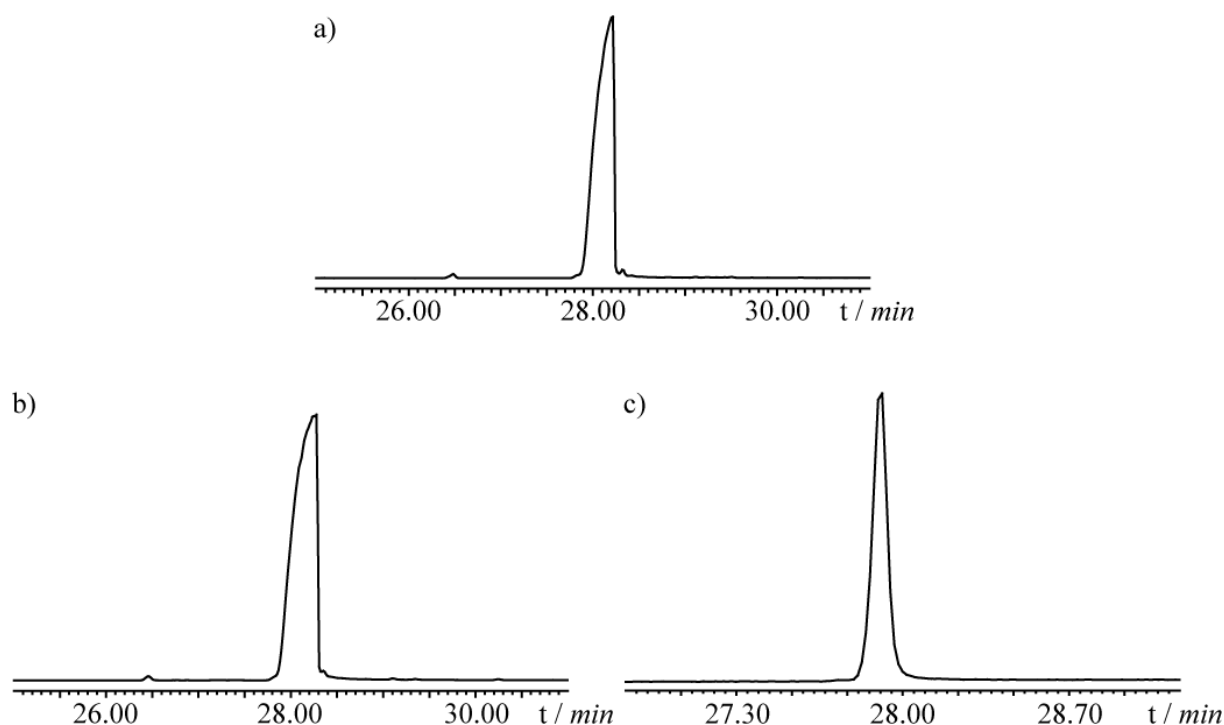
das gleiche Strukturmuster zugrunde liegt, sind ihre chromatographischen Eigenschaften relativ ähnlich.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden drei verschiedene Trennmethoden zur Analyse der Naturproben herangezogen: Gaschromatographie, Reversed phase Hochleistungsflüssigkeitschromatographie und Silberionen-Chromatographie.

### 5.1.1 Gaschromatographie (GC)

Die Gaschromatographie ist eine Standardmethode der organischen Chemie zur Auftrennung komplexer Substanzgemische.<sup>[85]</sup> Sie basiert auf der Verteilung der Moleküle zwischen der mobilen (Gas-)Phase und der stationären Phase. Dabei liegt ein Verteilungsgleichgewicht vor, die zugehörige Gleichgewichtskonstante ist eine charakteristische Eigenschaft der jeweiligen organischen Verbindung. Die Größe der Konstante hängt von der Struktur der stationären Phase und von der Temperatur ab, so dass eine geschickte Auswahl des Säulenmaterials und des Temperaturprogramms eine Optimierung der Trennung ermöglicht.

Aus früheren GC/MS-Analysen von Sekretproben war bereits bekannt, dass Koelutionen von Triacylglyceriden mit ähnlicher Struktur auftreten können.<sup>[25]</sup> Es stellte sich daher die Frage, ob Verbindungen, die sich nur bezüglich der Position der Fettsäuren im Molekül unterscheiden, gaschromatographisch voneinander zu trennen sind. Zur Untersuchung dieses Problems wurden Trennungen von Gemischen aus jeweils zwei der drei Modellverbindungen mit definierter Fettsäurezusammensetzung (**127**, **128** und **129**) an einer unpolaren stationären Phase (BPX-5) durchgeführt (**Abb. 5-3**). Weil bei den ersten beiden Messungen die Positionsisomere koeluierten, wurde für die dritte Koinjektion die Konzentration der Probe deutlich verringert. Auch dies führte jedoch nicht zu einer Trennung der Isomere. Eine Absenkung der Heizrate von 5 °C/Min. auf 3 °C/Min. hatte ebenfalls nicht den gewünschten Effekt. Massenspektren, die mittels GC/MS-Kopplung entstanden sind, können demnach nicht zur Unterscheidung von Positionsisomeren verwendet werden, da nicht klar ist, ob das Spektrum einer einzelnen oder der Überlagerung mehrerer ähnlicher Verbindungen zuzuordnen ist.



**Abb. 5-3:** Untersuchung der gaschromatographischen Eigenschaften der synthetisierten Triacylglycerid-Modellverbindungen **127**, **128** und **129** an unpolarer Phase (BPX-5; Heizprogramm: 175 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C). Koinjektion von a) **127** und **128**; b) **127** und **129**; c) **128** und **129**.

Der Einsatz chiraler stationärer Phasen in der Gaschromatographie ermöglicht die Untersuchung chiraler Moleküle hinsichtlich der Konfiguration ihrer Stereozentren. Die entsprechenden Säulenmaterialien weisen jedoch im Vergleich zu achiralen GC-Säulen deutlich geringere maximale Betriebstemperaturen auf (üblicherweise  $\leq 200$  °C). Aufgrund der relativ hohen Molekulargewichte der untersuchten Triacylglyceride ( $458 - 716 \text{ g mol}^{-1}$  für Verbindungen, die sich aus den zwölf hier näher untersuchten Fettsäuren zusammensetzen) war der bei der chiralen Gaschromatographie nutzbare Temperaturbereich für eine Elution der Naturstoffe nicht ausreichend.

### 5.1.2 Reversed phase Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC)

In der Literatur werden zahlreiche Trennungen von Triacylglycerid-Gemischen mit Hilfe der Reversed phase Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) beschrieben.<sup>[86, 87]</sup>

Die Trennung erfolgt an einer unpolaren stationären Phase unter Verwendung polarer Lösungsmittel als mobile Phase. Die beste Trennleistung kann mit Octadecylsilyl-Phasen erreicht werden, bei denen die Kohlenwasserstoffketten chemisch an die Oberfläche sphärischer Kieselgelpartikel gebunden sind. Aus sterischen Gründen ist die Kieselgeloberfläche nie vollständig von Alkylgruppen bedeckt, daher treten stets auch polare Wechselwirkungen mit freien Silanol-Gruppen auf.

Üblicherweise werden wasserfreie mobile Phasen verwendet, die Acetonitril oder Methanol als schwaches Lösungsmittel und Chloroform, Tetrahydrofuran, Dichlormethan, Isopropanol oder Aceton, selten auch Methyl-*tert*butylether oder Methylethylketon, als starke Komponente enthalten. Das schwache Lösungsmittel nimmt dabei zwei Rollen ein: Zum einen hemmt seine starke Oberflächenspannung den Übergang der Substanzen von der stationären in die mobile Phase, zum anderen beeinflussen seine polaren Wechselwirkungen mit den Molekülen die Selektivität (Acetonitril geht beispielsweise  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen mit ungesättigten Verbindungen ein). Die Wahl der mobilen Phase hängt dabei stets auch vom eingesetzten Detektor ab. Mit dem im Rahmen dieser Arbeit benutzten UV-Detektor können nur Lösungsmittel verwendet werden, die im untersuchten Wellenlängenbereich (für Triacylglyceride 200 – 230 nm) keine oder nur eine sehr geringe Absorption aufweisen. Von den oben genannten sind aufgrund ihres Absorptionsverhaltens nur Acetonitril und Methanol als schwache sowie Isopropanol und Methyl-*tert*butylether (MTBE) als starke Lösungsmittel geeignet. Das optimale Solvens für die Injektion der Probe ist die mobile Phase, wenn die Löslichkeit ausreichend ist. Ist dies nicht der Fall, kann auch eine möglichst geringe Menge des starken Lösungsmittels verwendet werden.<sup>[88]</sup>

Für das Retentionsverhalten von Triacylglyceriden gilt, dass eine abnehmende Anzahl an Methylengruppen und eine zunehmende Anzahl an funktionellen Gruppen (inklusive Doppelbindungen) im Molekül aufgrund abnehmender unpolarer bzw. zunehmender polarer Wechselwirkungen die Retention schrittweise senken. Näherungsweise können die Trennungen durch die equivalent carbon number (ECN) beschrieben werden:

$$ECN = CN - a' \times ND \quad (5-1)$$

wobei CN die Anzahl der Kohlenstoffatome in den drei Fettsäureketten, ND die Anzahl der Doppelbindungen im Molekül und  $a'$  ein empirischer Faktor (nahe bei, aber nicht genau 2) ist. Mit steigender ECN nehmen die Retention der Triacylglyceride und die Selektivität der Trennung zu. Dieses Konzept vernachlässigt jedoch die Verteilung der Methylengruppen und der Doppelbindungen auf die einzelnen Fettsäuren, die Lage und Geometrie der Doppelbindungen und die Position der Fettsäuren am Glycerinrückgrat. Innerhalb einer

Gruppe von Triacylglyceriden mit identischer ECN ist daher eine weitere Auftrennung möglich. Eine RP-HPLC-Trennung von Triacylglycerid-Isomeren, die sich lediglich bezüglich der Position der einzelnen Fettsäuren am Glycerinrückgrat unterscheiden, war bislang nicht erfolgreich.<sup>[88]</sup>

Um das RP-HPLC-Verhalten der im Cloacaldrüsensekret von *Sphenodon punctatus* enthaltenen Triacylglyceride abschätzen zu können, wurden Trennungen der Triacylglycerid-Gemische aus der statistischen Synthese unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. Die in den Gemischen enthaltenen Fettsäuren waren so ausgewählt worden, dass Gemisch 1 Verbindungen mit identischer bzw. sehr ähnlicher ECN enthielt. Die Komponenten von Gemisch 2 sollten den gesamten Bereich der in den Sekretproben zu erwartenden ECN-Werte abdecken; das Triacylglycerid **B/B/B**, das mit ECN = 36 die stärkste Retention bei der RP-HPLC aufweisen sollte, konnte jedoch im Produktgemisch der statistischen Synthese nicht nachgewiesen werden. **Tabelle 5-2** zeigt eine Übersicht über die ECN-Werte der Inhaltsstoffe der Testgemische; bei der Berechnung wurde der empirische Faktor  $a'$  aus Gleichung 5-1 gleich 2 gesetzt.

**Tabelle 5-2:** ECN (equivalent carbon number)-Werte der Komponenten der Triacylglycerid-gemische aus der statistischen Synthese

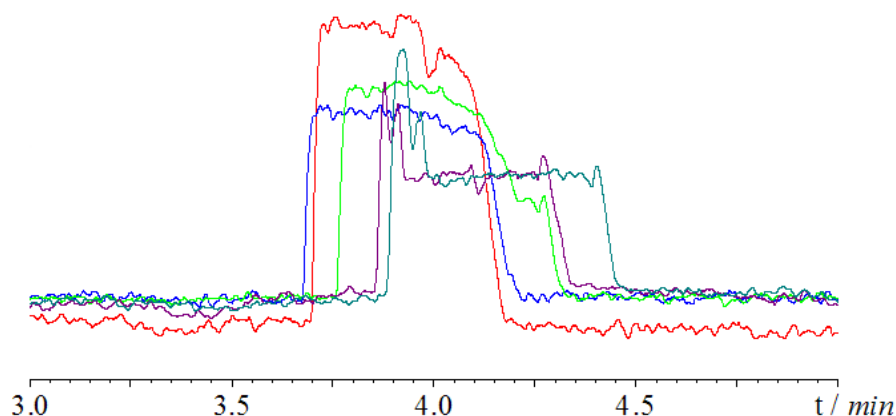
	ECN	Säure
Gemisch 1	22	<b>21/69/69</b>
		<b>69/69/75</b>
		<b>21/21/69</b>
	23	<b>21/69/75</b>
		<b>69/75/75</b>
		<b>21/21/75</b>
Gemisch 2	24	<b>21/75/75</b>
		<b>75/75/75</b>
	12	<b>A/A/A</b>
	20	<b>A/A/B</b>
	28	<b>A/B/B</b>

Es wurde eine Octadecylsilyl-Phase, bei der freie Silanolgruppen soweit möglich mittels Kupplung mit einem kleineren Silan deaktiviert waren, verwendet. Als mobile Phase wurden Gemische aus Acetonitril und Isopropanol oder Acetonitril und MTBE eingesetzt.

Es wurde eine Vielzahl von Versuchen zur RP-HPLC-Trennung der Triacylglycerid-Gemische durchgeführt. Zunächst wurde das Gemisch 1 als Analysesubstanz verwendet, das



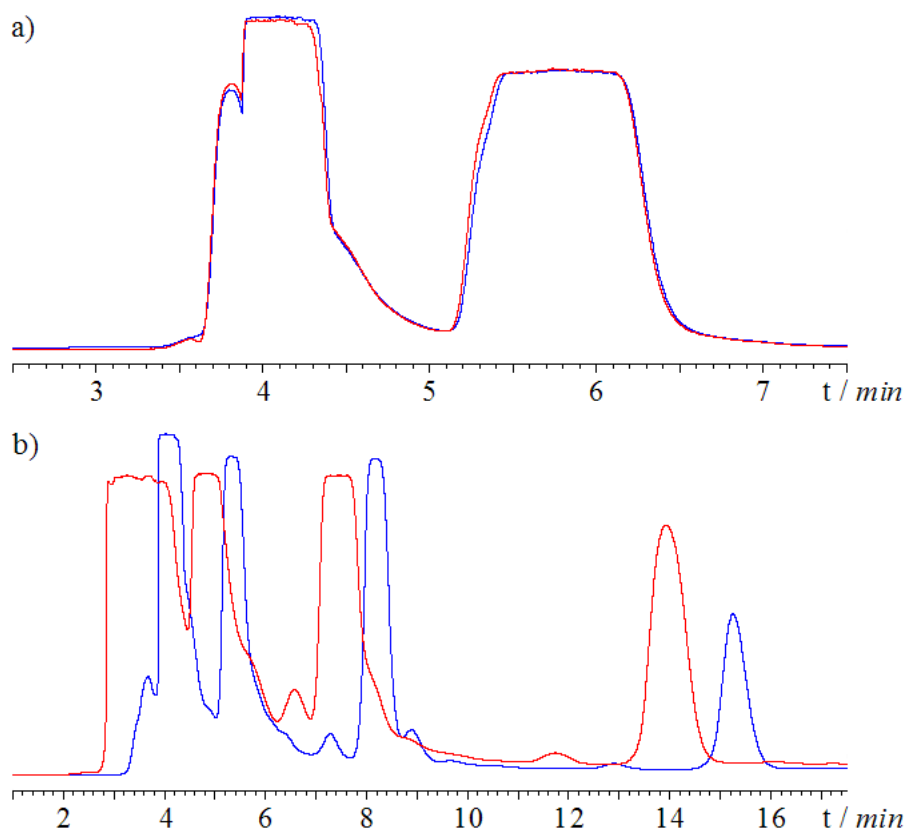
in verschiedenen Konzentrationen in einer Mischung aus Acetonitril und Isopropanol im Volumenverhältnis 65:35 gelöst wurde. Da in diesem Lösungsmittelgemisch die Löslichkeit der Triacylglyceride relativ gering war, wurde bei weiteren Trennungen Dichlormethan als Lösungsmittel für die Injektion der Probe benutzt. Als mobile Phase wurde Acetonitril mit unterschiedlichen Anteilen an Isopropanol (zwischen 10 und 35 Vol.-%) eingesetzt. Erfolgreiche RP-HPLC-Trennungen von Triacylglyceriden unter vergleichbaren Bedingungen wurden bereits beschrieben.<sup>[89]</sup> Es zeigte sich jedoch, dass alle im analysierten Gemisch enthaltenen Verbindungen unter den gewählten Bedingungen sehr geringe Retentionszeiten aufwiesen und nicht voneinander getrennt werden konnten; zudem waren die Ergebnisse nur schlecht reproduzierbar (**Abb. 5-4**).



**Abb. 5-4:** RP-HPLC-Trennungen von Gemisch 1 mit Acetonitril-Isopropanol-Gemischen als mobile Phase. Acetonitril und Isopropanol im Volumenverhältnis von: blau: 65:35; rot: 75:25; hellgrün: 85:15; violett und dunkelgrün: 90:10.

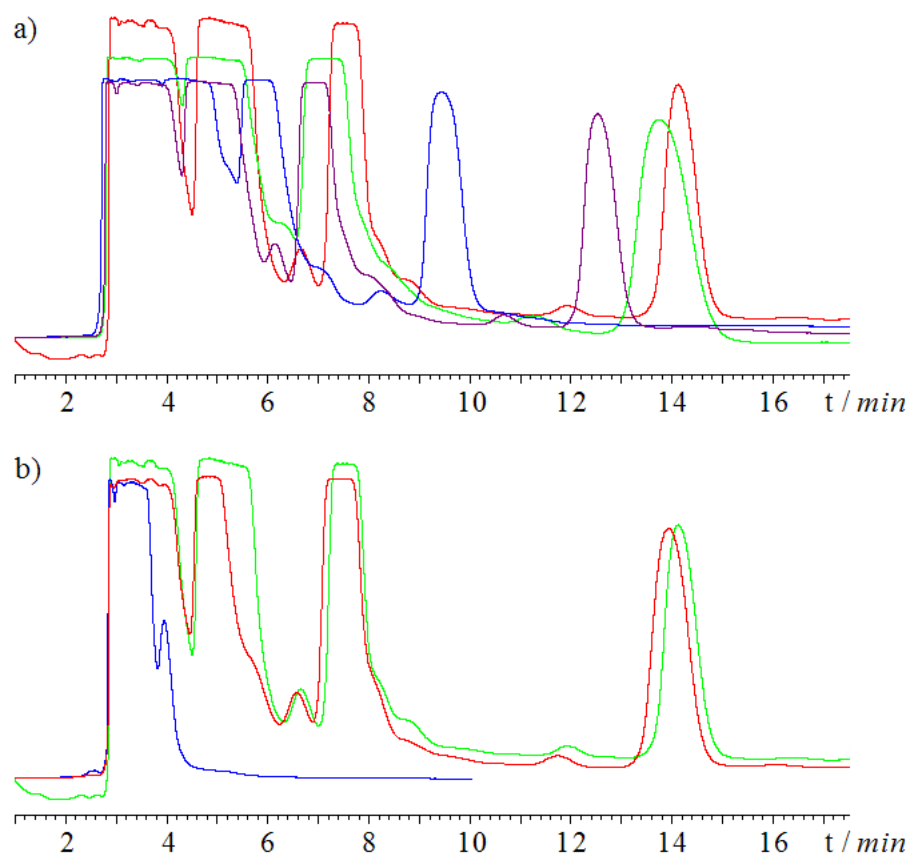
Für weitere Versuche wurde daher die Zusammensetzung der mobilen Phase verändert, indem Isopropanol durch MTBE (ebenfalls in verschiedenen Anteilen, zwischen 15 und 25 Vol.-%) ersetzt wurde. Erfolgreiche Trennungen von Triacylglyceriden mit derartigen mobilen Phasen wurden bereits in der Literatur beschrieben.<sup>[90]</sup> Zunächst wurde das erste Triacylglycerid-Gemisch, gelöst in Acetonitril und MTBE im Volumenverhältnis 80:20, untersucht. Es konnte erneut keine ausreichende Retention und Trennleistung erzielt werden, zudem zeigte das zur Injektion verwendete Lösungsmittel ebenfalls eine Absorption (**Abb. 5-5 a**). Die Trennung von Gemisch 2, gelöst in Acetonitril und MTBE im Volumenverhältnis 50:50 oder in Dichlormethan, ergab ein ähnliches Bild: Zwar wies ein Teil der in der Probe enthaltenen Verbindungen höhere Retentionszeiten auf, diese lagen jedoch immer noch insgesamt zu niedrig (< 17 Minuten), so dass keine brauchbare Trennleistung

erzielt werden konnte. Hinzu kam, dass auch hier keine akzeptable Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gegeben war (**Abb. 5-5 b**).



**Abb. 5-5:** RP-HPLC-Trennungen von Gemisch 1 und Gemisch 2 mit einem Acetonitril-MTBE-Gemisch im Volumenverhältnis 80:20 als mobile Phase. Blau: Trennung 1; rot: Trennung 2 (Wiederholung unter identischen experimentellen Bedingungen). a) Gemisch 1; b) Gemisch 2.

Dieses Bild wurde durch die Untersuchung einer 1:1-Mischung aus Gemisch 1 und 2, gelöst in Dichlormethan, vervollständigt. Aufgrund der großen Ähnlichkeit ihrer ECN-Werte konnten die Triacylglyceride nicht bzw. nicht vollständig voneinander getrennt werden; zudem waren ihre Retentionszeiten erneut nicht reproduzierbar (**Abb. 5-6**).



**Abb. 5-6:** RP-HPLC-Trennungen einer 1:1-Mischung aus Gemisch 1 und 2 mit Acetonitril-MTBE-Gemischen als mobile Phase. a) Acetonitril und MTBE im Volumenverhältnis von: blau: 75:25; rot und violett: 80:20; grün: 85:15; b) Acetonitril und MTBE im Volumenverhältnis 80:20, Analysensubstanz: blau: reines Dichlormethan; rot: Gemisch 2; grün: 1:1-Mischung aus Gemisch 1 und 2.

### 5.1.3 Silberionen-Chromatographie

Bei dieser Methode basiert die Trennung auf einer einzigen Eigenschaft der Moleküle, der Anzahl der Doppelbindungen. Die bei der Silberionen-Chromatographie erhaltenen Fraktionen können mit Hilfe anderer Chromatographieverfahren wie Gaschromatographie (für analytische Zwecke gekoppelt an ein Massenspektrometer) oder RP-HPLC weiter aufgetrennt werden.

Ungesättigte Verbindungen sind in der Lage, charge-transfer-Komplexe mit  $\text{Ag}^+$ -Ionen auszubilden, wobei die Doppelbindung als Donor und das Übergangsmetall als Akzeptor wirkt. An ein Metallzentrum können mehrere Doppelbindungen koordinieren. Die Stabilität der Komplexe sinkt mit zunehmender Kettenlänge und steigender Anzahl von Substituenten an der Doppelbindung. *cis*-Doppelbindungen werden stärker komplexiert als ihre *trans*-

konfigurierten Isomere. Konjugierte Polyene liefern schwächere Komplexe als durch Methylengruppen voneinander getrennte Doppelbindungen, bei weiter steigendem Abstand zwischen den Doppelbindungen werden die Komplexe noch stärker. Aufgrund der verschiedenen Effekte, die bei der Retention eine Rolle spielen, ist es bei Verbindungen, die sich sowohl in der Kettenlänge als auch in der Lage der Doppelbindungen unterscheiden, nicht immer möglich, die genaue Reihenfolge der Elution vorherzusagen.<sup>[91]</sup>

Generell ist die Komplexierungsgeschwindigkeit sehr groß, aber die Komplexe sind instabil und liegen im Gleichgewicht mit der freien Form des Olefins vor. Die Komplexierung eines Triacylglycerids kann näherungsweise aus der Summe der Komplexierungsfähigkeiten der einzelnen Fettsäuren hergeleitet werden; es entstehen jedoch stärkere Komplexe, wenn die Unsättigungen in einer Säure konzentriert sind, als wenn sie auf mehrere Fettsäuren verteilt sind. Die Position der ungesättigten Fettsäuren im Triacylglycerid spielt ebenfalls eine Rolle. Aufgrund sterischer Effekte bilden Olefine, die an Position 2 des Glycerinrückgrats gebunden sind, schwächere Komplexe.<sup>[91]</sup>

Ein weiterer wichtiger Faktor bei der Betrachtung des Retentionsverhaltens ist die Zusammensetzung der stationären Phase. Auch wenn die Komplexierung durch Silberionen die dominierende Wechselwirkung darstellt, wird die Retention zusätzlich durch Wechselwirkungen des Trägermaterials (meist das polare Kieselgel) mit dem Triacylglycerid bestimmt. Im Falle kieselgelbasierter Ionenaustauscher treten zudem Wechselwirkungen mit organischen Gruppen auf.

Die Selektivität der Trennung kann zudem durch die Wahl der mobilen Phase stark beeinflusst werden. Diese geht Wechselwirkungen sowohl mit den gelösten Verbindungen als auch mit der stationären Phase ein. Lösungsmittel wie Benzol, Toluol oder Acetonitril komplexieren bevorzugt die Silberionen, während Methanol, Isopropanol und Aceton die Stärke der Wechselwirkungen der gelösten Substanzen mit Silanol- und anderen polaren Gruppen verringern. Bei Verwendung von Methanol an Ionenaustauschersäulen wurden jedoch unerwünschte Umesterungsreaktionen von Triacylglyceriden beobachtet, die vermutlich durch freie Säuregruppen der stationären Phase katalysiert wurden.<sup>[92]</sup> Dies kann durch den Einsatz aprotischer Lösungsmittel vermieden werden. Generell liefern Mischungen aus chlorierten Lösungsmitteln und Aceton oder Acetonitril bei der Silberionen-Chromatographie gute Ergebnisse.

Mehrere Chromatographietechniken sind zur Durchführung silberionenbasierter Trennungen geeignet: neben der Dünnschichtchromatographie kommt die Säulenchromatographie bei Normaldruck ebenso in Frage wie die HPLC.<sup>[91]</sup> Im Rahmen dieser

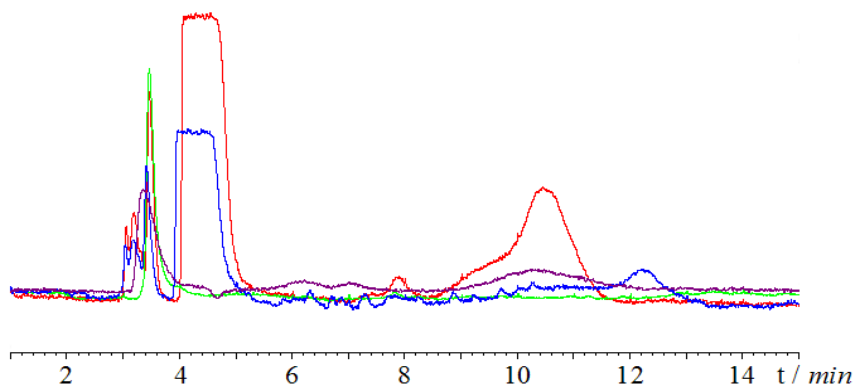
Arbeit wurden ausschließlich die beiden letzten Techniken angewandt. Bei HPLC-Trennungen sind die Ergebnisse auch vom eingesetzten Detektor abhängig. Der hier verwendete UV-Detektor schränkte die Auswahl möglicher Lösungsmittel stark ein, da diese im beobachteten Wellenlängenbereich (200 – 230 nm) keine Absorption zeigen durften. Anstelle eines chlorierten Lösungsmittels wurde daher das bei niedrigen Wellenlängen deutlich schwächer absorbierende Hexan verwendet.<sup>[93, 94]</sup>

Die einfachste stationäre Phase für die Silberionen-Chromatographie ist silbernitrat-imprägniertes Kieselgel. Dieses kann durch Erhitzen von Kieselgel mit wässriger Silbernitratlösung und anschließendes Trocknen hergestellt und in der Normaldruck-säulenchromatographie eingesetzt werden.<sup>[95]</sup> Die Anwendung dieser Methode im Mikromaßstab ermöglichte eine Trennung der synthetisierten Triacylglycerid-Gemische. Diese war jedoch nicht vollständig, es wurden Fraktionen erhalten, in denen jeweils die Verbindungen mit einer bestimmten Doppelbindungsanzahl stark angereichert waren.

Eine höhere Trennleistung als bei der Säulenchromatographie bei Normaldruck kann mit Hilfe der HPLC erreicht werden. Von entscheidender Bedeutung ist dabei die Auswahl und Herstellung einer geeigneten stationären Phase, die ausreichend stabil ist und reproduzierbare Ergebnisse liefert. Eine starke Immobilisierung von Silberionen kann mit Kationentauschern erzielt werden, bei diesen tritt im Gegensatz zu Kieselgelphasen i. A. kein Ausbluten der Säule auf. Gute silberionen-chromatographische Trennungen von Triacylglycerid-Gemischen wurden von CHRISTIE mit einer kommerziell erhältlichen Säule, gepackt mit einem kieselgelbasierten Ionenaustauscher, nach Behandlung mit Silbernitratlösung erzielt.<sup>[96]</sup> Der genaue Silbergehalt einer solchen Säule kann nicht bestimmt werden, er ist abhängig von der Anzahl der Sulfonsäuregruppen und dem Grad des Austauschs der ursprünglichen Kationen gegen  $\text{Ag}^+$ -Ionen.

Bei der Anwendung der silberionen-chromatographischen HPLC-Trennung nach der Methode von CHRISTIE auf die Triacylglycerid-Gemische aus der statistischen Synthese konnte jedoch keine brauchbare Trennung beobachtet werden; wahrscheinlich spielte hier die schwache UV-Absorption und die daraus resultierende schlechte Nachweisbarkeit der Triacylglyceride eine Rolle (diese Methode ist nur für Probenmengen  $< 1$  mg geeignet<sup>[97]</sup>) (**Abb. 5-7**). Der molare Absorptionskoeffizient  $\epsilon$  der Estergruppe beträgt 50 bei einer Wellenlänge von 205 nm. Um Spurenanalyse betreiben zu können, sind jedoch Werte von  $\epsilon > 100$  nötig. Zudem zeigen viele Verunreinigungen (die u. a. in den verwendeten Lösungsmitteln beim Stehenlassen in Gegenwart von Licht und Luft entstehen können) Absorptionen im niedrigen UV-Bereich, die das Signal der Triacylglyceride überdecken und

so eine Detektion unmöglich machen können.<sup>[98]</sup> Ein besserer Nachweis der Verbindungen wäre beispielsweise mittels HPLC-Massenspektrometrie-Kopplung, idealerweise in Form von HPLC-MS/MS, möglich.



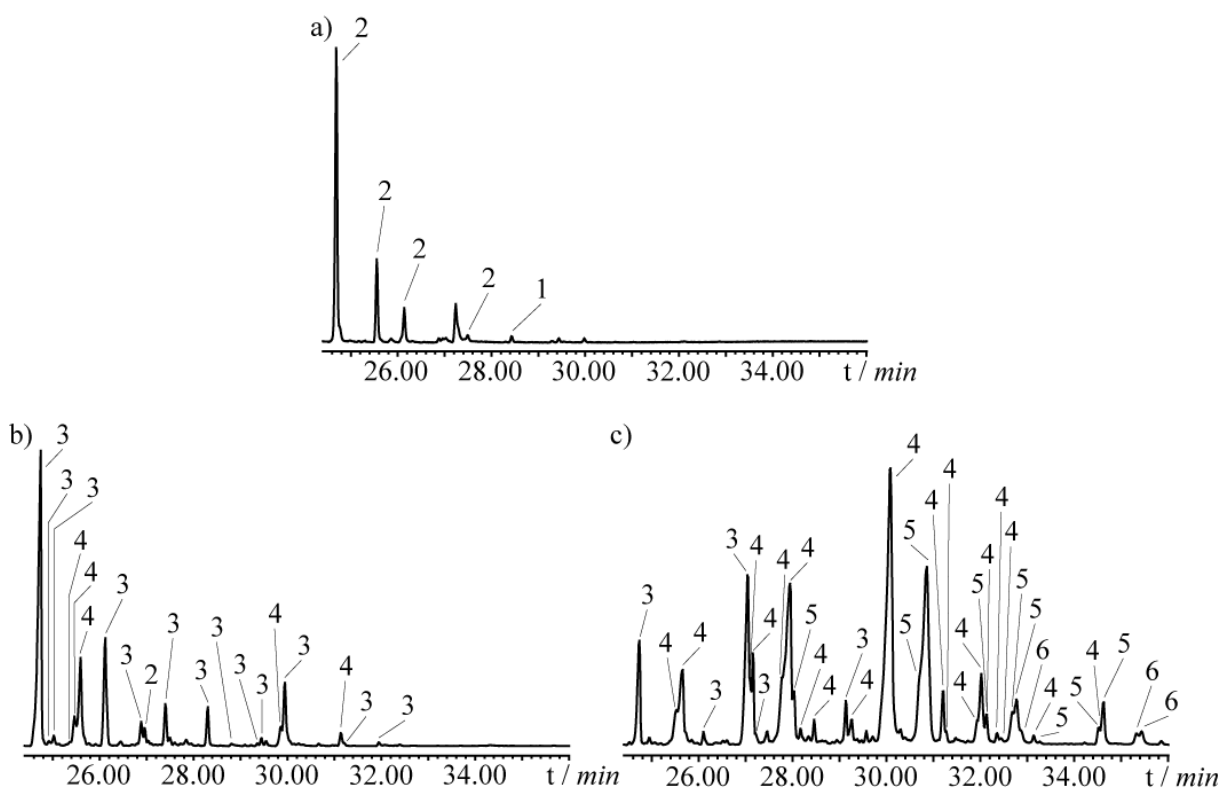
**Abb. 5-7:** Silberionen-HPLC-Trennungen von Gemisch 1 mit Hexan-Acetonitril-Gemischen als mobile Phase. Anteil von Acetonitril: blau und rot: 1.0 Vol.-%; grün und violett: 0.5 Vol.-%.

Da die silberionen-basierte HPLC-Trennung der Triacylglyceride nicht erfolgreich war, wurde ausgehend von den vielversprechenden Vorversuchen eine Methode zur Normaldrucksäulenchromatographie im Mikromaßstab an silbernitratimprägniertem Kieselgel entwickelt. Dabei erfolgte die Elution mit einem Stufengradienten, bei dem ausgehend vom unpolaren Hexan durch einen steigenden Anteil an Diethylether die Polarität des Laufmittels erhöht wurde. Da die Elution von Verbindungen mit hohem Unsättigungsgrad mit reinem Diethylether nicht gelang, wurde zusätzlich Acetonitril verwendet. Die genaue Zusammensetzung des Stufengradienten zeigt **Tabelle 5-3**.

Die Fraktionen, die Triacylglyceride enthielten, wurden dann weiteren Analysen mittels GC/EI-MS und GC/CI-MS unterworfen. Beispielhaft sind in **Abb. 5-8** die Gaschromatogramme der drei Triacylglycerid-Fraktionen, die bei der Trennung der Naturprobe 17 erhalten wurden, abgebildet; die eingefügten Zahlen geben den Grad der Unsättigung der einzelnen Moleküle an. Es zeigte sich, dass gesättigte und einfach ungesättigte Verbindungen bei dieser Trennmethode zum großen Teil verloren gingen; diese mussten daher anhand der GC/MS-Untersuchung der unbehandelten Naturproben identifiziert werden. Für Triacylglyceride mit zwei und mehr Doppelbindungen konnte keine vollständige Trennung, sondern nur eine starke Anreicherung anhand des jeweiligen Unsättigungsgrades erreicht werden. Diese reichte jedoch für eine GC/MS-analytische Identifizierung der Komponenten jeder Fraktion aus.

**Tabelle 5-3:** Stufengradient für die Normaldrucksäulenchromatographie im Mikromaßstab an silbernitratimprägniertem Kieselgel.

Volumenanteil / %			Volumen / mL
Hexan	Diethylether	Acetonitril	
80	20	-	5
70	30	-	5
60	40	-	5
50	50	-	5
40	60	-	5
30	70	-	10
20	80	-	5
10	90	-	5
-	100	-	20
-	80	20	5
-	60	40	5

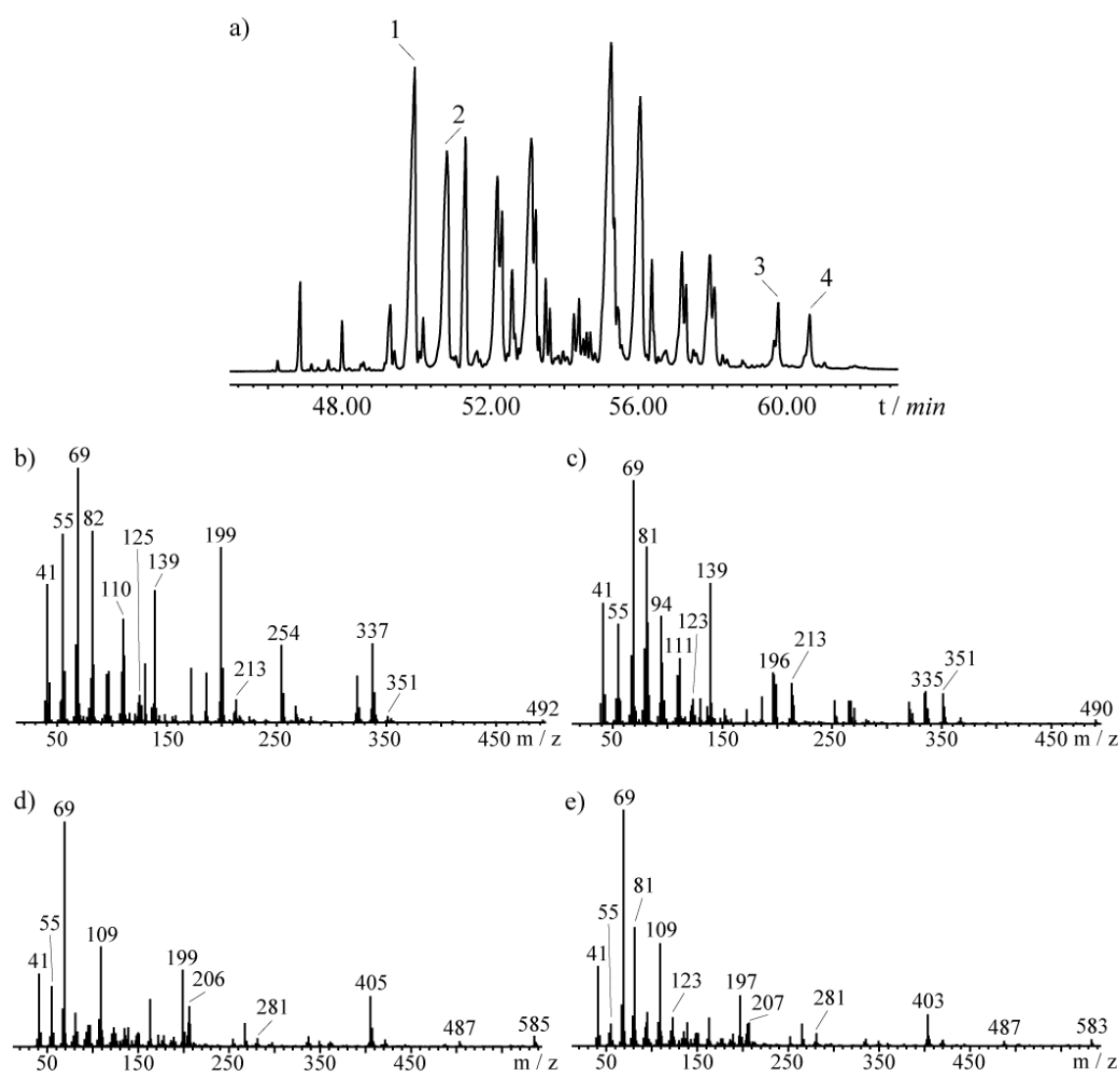


**Abb. 5-8:** Gaschromatogramme der drei Triacylglycerid-Fractionen, die bei der Normaldrucksäulenchromatographie im Mikromaßstab an silbernitratimprägniertem Kieselgel von Naturprobe 17 erhalten wurden. Die Zahlen geben die Anzahl der in den einzelnen Verbindungen vorhandenen Doppelbindungen an.

## 5.2 Massenspektrometrie

### 5.2.1 Elektronenstoß-Ionisation (EI-MS)

Im Rahmen früherer Arbeiten wurden Proben des Cloacaldrüsensekrets von *Sphenodon punctatus* mittels Gaschromatographie, gekoppelt mit EI-Massenspektrometrie (GC/EI-MS), untersucht.<sup>[25, 26]</sup> Die Gaschromatogramme zeigten eine große Zahl von Verbindungen mit ähnlichen Massenspektren. Vier dieser Spektren sind in **Abb. 5-9** dargestellt.



**Abb. 5-9:** Gaschromatographische Untersuchung einer Naturprobe (Probe 17) an unpolarer Phase (BPX-5; Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C). a) Gaschromatogramm; Massenspektren von b) Verbindung 1; c) Verbindung 2; d) Verbindung 3; e) Verbindung 4.



Allen EI-Massenspektren gemeinsam war, dass der  $[M]^+$ -Peak der Moleküle ( $m/z = 492$  (Verbindung 1),  $490$  (Verbindung 2),  $628$  (Verbindung 3),  $626$  (Verbindung 4)) sehr klein oder gar nicht zu beobachten war. Daneben gab es drei Gruppen charakteristischer Peaks: Die erste mit  $[M - RCOO]^+$  ( $m/z = 337, 351$  (Verbindung 1),  $335, 351$  (Verbindung 2),  $405, 487$  (Verbindung 3),  $403, 487$  (Verbindung 4)), begleitet von  $[M - RCOO - 1]^+$  (wobei letzterer im Vergleich zu ersterem bei ungesättigten Fettsäuren größer war als bei gesättigten), entsprach der Abspaltung einer Acyloxygruppe. Die zweite mit  $[RCO + 74]^+$  ( $m/z = 199, 213$  (Verbindung 1),  $197, 213$  (Verbindung 2),  $199, 281$  (Verbindung 3),  $197, 281$  (Verbindung 4)) entstand durch den Verlust eines weiteren Fettsäurerests. Die dritte Gruppe bestand aus Fragmenten mit  $[RCO]^+$  ( $m/z = 125, 139$  (Verbindung 1),  $123, 139$  (Verbindung 2),  $125, 207$  (Verbindung 3),  $123, 207$  (Verbindung 4)), begleitet von  $[RCO - 1]^+$  bei ungesättigten Fettsäuren. Des Weiteren entstand eine Reihe kleinerer Fragmente ohne größere Aussagekraft. Die beobachtete Zusammensetzung der EI-Massenspektren stimmte mit bereits in der Literatur beschriebenen Spektren überein.<sup>[99]</sup>

Nachdem alle im Sekret enthaltenen Fettsäuren identifiziert wurden, sollte die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der einzelnen Triacylglyceride anhand ihrer EI-Massenspektren erfolgen. Hierfür war aber die Kenntnis der Molekülmassen der einzelnen Verbindungen notwendig; diese sollten ebenfalls massenspektrometrisch unter Einsatz milderer Ionisierungsmethoden wie Chemischer (CI) oder Elektrospray-Ionisation (ESI) ermittelt werden.

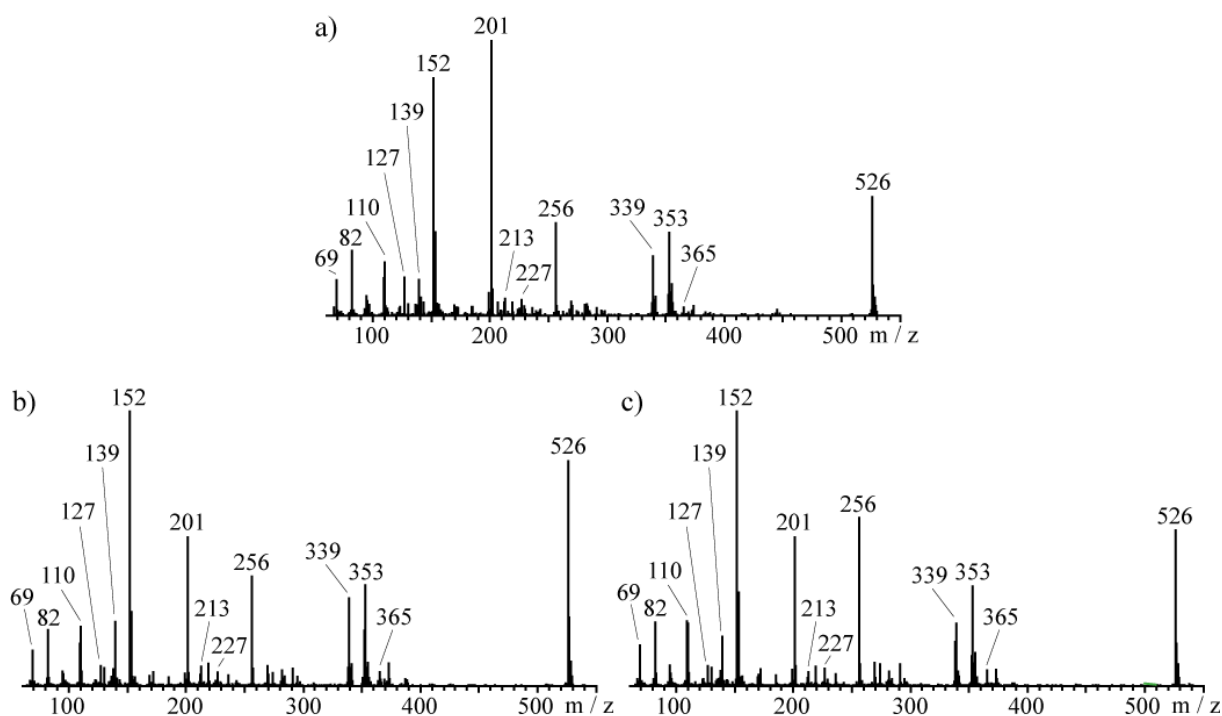
Neben der Fettsäurezusammensetzung eines Triacylglycerids ist die Position der einzelnen Säuren innerhalb des Moleküls von großer Bedeutung für seine biologische Aktivität. Eine Unterscheidung von Positionsisomeren anhand ihrer EI-Massenspektren war jedoch nicht möglich, da die erwarteten charakteristischen Fragmente der Zusammensetzung  $[M - RCOOCH_2]^+$ , die auf die Abspaltung einer Fettsäure von einer der beiden terminalen Positionen zurückzuführen sind, nicht beobachtet werden konnten.<sup>[99]</sup>

## 5.2.2 Chemische Ionisation (CI-MS)

Diese Methode ermöglicht wie die EI-Massenspektrometrie eine Kopplung mit der Gaschromatographie. Da die Ionisation bei der CI-Massenspektrometrie jedoch unter deutlich milderen Bedingungen erfolgt, findet eine geringere Fragmentierung statt. Je nach verwendetem Reaktandgas entstehen Addukte vom Typ  $[M + H]^+$  oder  $[M + \text{Reaktand} + H]^+$ , die, abhängig von ihrer Stabilität und den Messbedingungen, mehr oder weniger stark

zerfallen. Dies sollte die Bestimmung der Molekülmassen der einzelnen Triacylglyceride ermöglichen.<sup>[100, 101, 102]</sup> Zusätzlich sollte untersucht werden, ob Isomere, die sich in der Verteilung der Fettsäuren innerhalb des Moleküls unterscheiden, verschiedene Massenspektren liefern.

Als Modellverbindungen wurden die drei gezielt synthetisierten Triacylglyceride **127**, **128** und **129** eingesetzt. Die ersten Messungen wurden mit Ammoniak als Reaktandgas durchgeführt. Die Massenspektren aller drei Verbindungen zeigten  $[M + NH_4]^+$ -Ionen ( $m/z = 526$ ) mit relativ hohen Intensitäten (**Abb. 5-10**). Daneben konnten  $[DAG]^+$ - ( $m/z = 339, 353, 365$ ) sowie mit geringerer Intensität  $[MAG]^+$ - und  $[RCO]^+$ -Ionen ( $m/z = 201, 213, 227$  bzw.  $127, 139, 152$ ) beobachtet werden. Die relativen Intensitäten der  $[DAG]^+$ -Fragmente ermöglichten jedoch keine Unterscheidung der Positionsisomere.

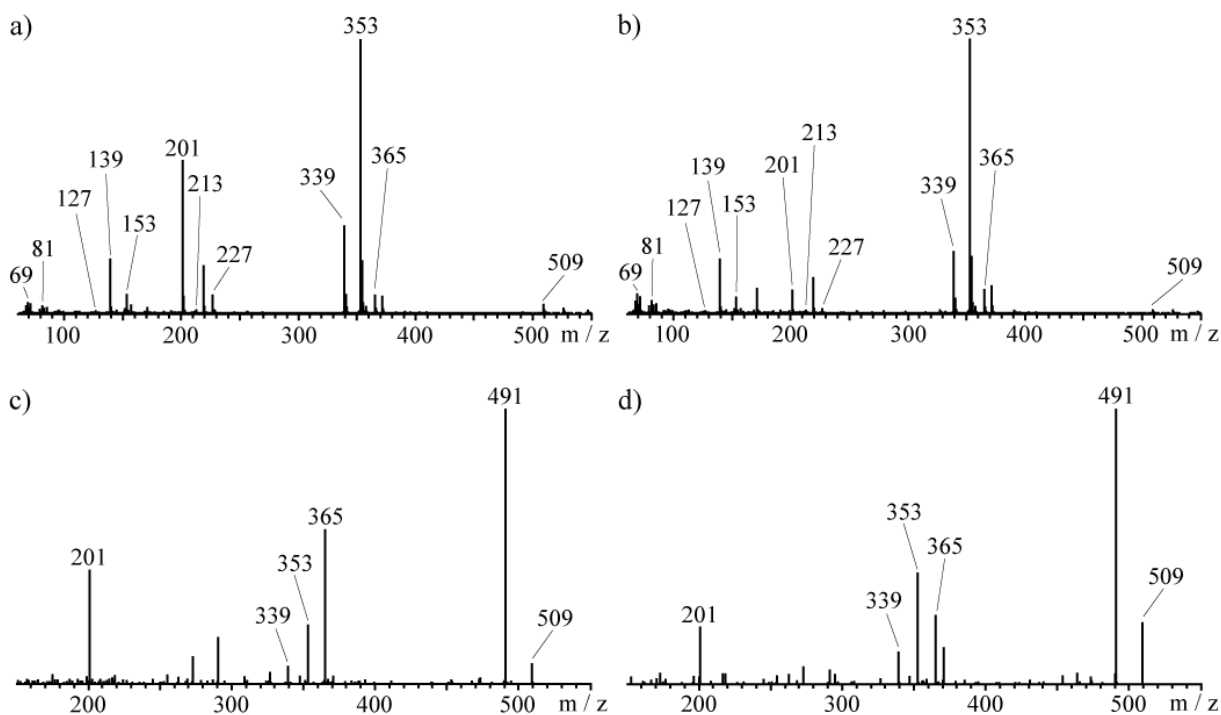


**Abb. 5-10:** CI-Massenspektren der Modellverbindungen **127**, **128** und **129** unter Verwendung von Ammoniak als Reaktandgas. a) **127**; b) **128**; c) **129**.

Weitere Versuche wurden mit den Modellverbindungen **127** und **128** unter Verwendung von Isobutan als Reaktandgas durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die gebildeten  $[M+H]^+$ -Ionen ( $m/z = 509$ ) unter den verwendeten Bedingungen nicht besonders stabil waren, sondern zum größten Teil sofort zu  $[DAG]^+$ -,  $[MAG]^+$ - und  $[RCO]^+$ -Ionen fragmentierten (**Abb. 5-11 a, b**). Innerhalb einer Gruppe von Ionen waren die relativen

Intensitäten der Peaks bei beiden Verbindungen sehr ähnlich, eine Unterscheidung der Positionsisomere war daher auch hier nicht möglich.

Zusätzlich zu den einfachen Massenspektren wurden auch MS/MS-Untersuchungen der  $[M+H]^+$ -Ionen von **127** und **128** durchgeführt (Abb. 5-11 c, d). In beiden Fällen entsprach der intensivste Peak im Spektrum einem  $[M + H - 18]^+$ -Ion ( $m/z = 491$ ). Daneben konnten  $[DAG]^+$ - und  $[MAG]^+$ -Ionen beobachtet werden. Während die Entstehung von  $[MAG]^+$  offensichtlich nur von der Struktur der Fettsäuren abhing, waren die relativen Intensitäten der  $[DAG]^+$ -Fragmente bei den beiden Triacylglyceriden unterschiedlich. Es wäre zu erwarten gewesen, dass die Abspaltung der Säure von der sekundären Position benachteiligt sein sollte; interessanterweise wurde das Gegenteil beobachtet.



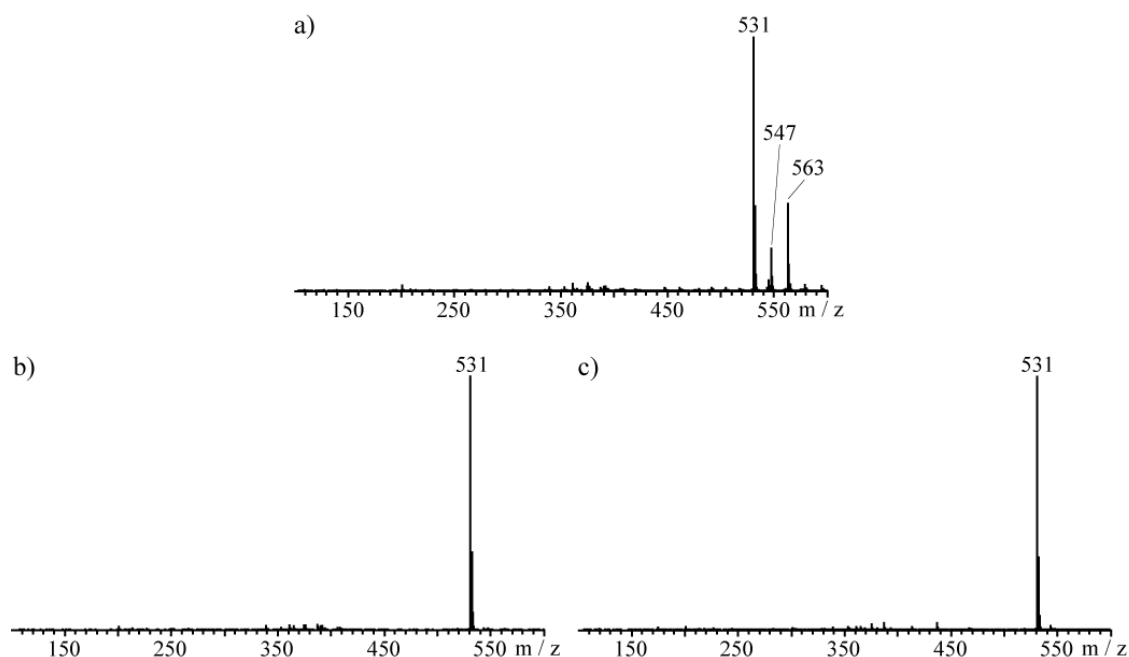
**Abb. 5-11:** CI-Massenspektren der Modellverbindungen **127**, **128** und **129** unter Verwendung von Isobutan als Reaktandgas. a) **127**; b) **128**; MS/MS der  $[M+H]^+$ -Ionen von c) **127**; d) **128**.

Alle CI-Massenspektren wurden mittels GC/CI-MS-Kopplung aufgenommen. Dabei zeigte sich, dass die Trennleistung des hierfür verwendeten Gaschromatographen geringer war als bei dem für die GC/EI-MS-Kopplung verwendeten Gerät.

### 5.2.3 Elektrospray-Ionisation (ESI-MS)

Die drei Modellverbindungen **127**, **128** und **129** wurden des Weiteren ESI-MS-Messungen unterzogen. Die Kopplung dieser Methode mit der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) ist eine Standardmethode zur Untersuchung von Triacylglycerid-Gemischen.<sup>[103, 104]</sup>

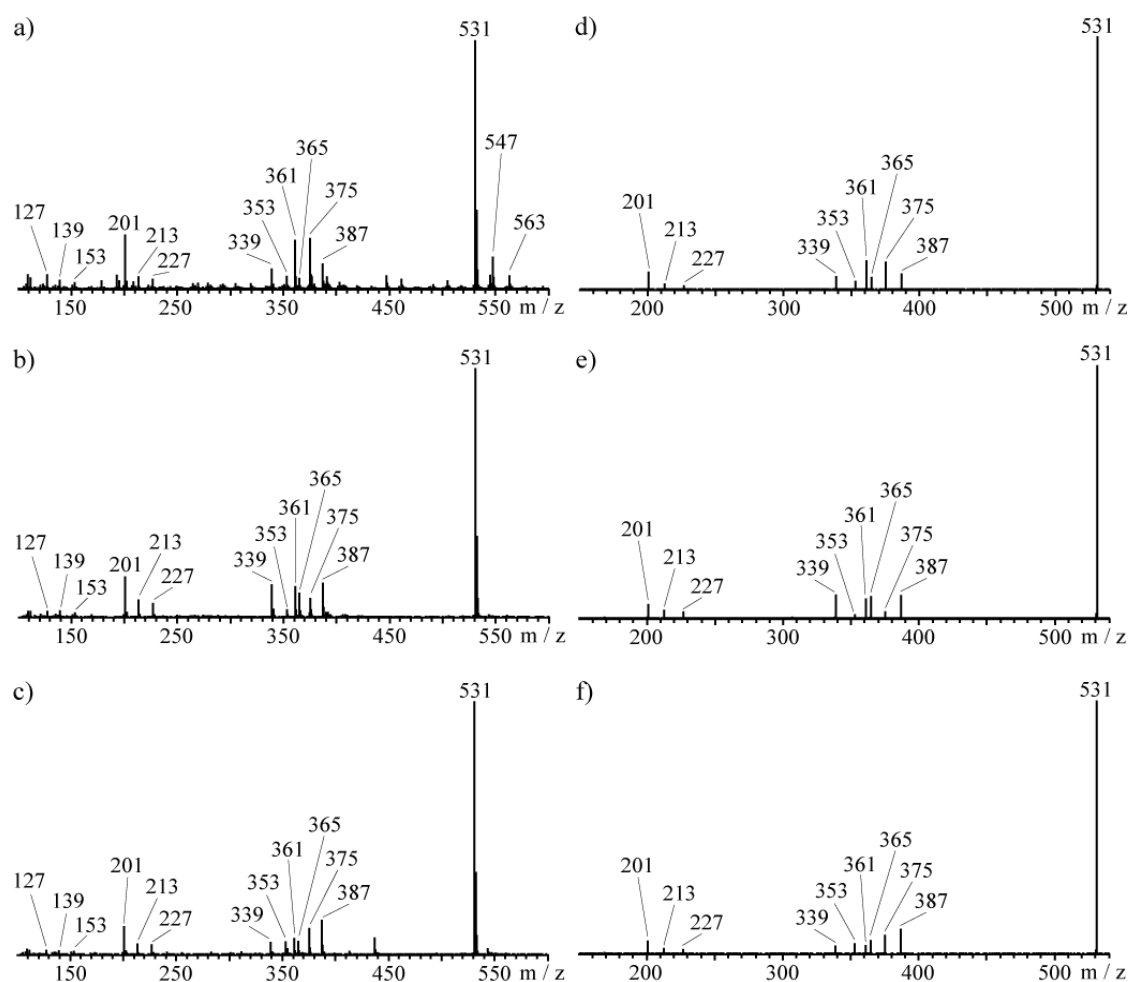
Zunächst wurden Lösungen der Triacylglyceride in Methanol / Chloroform (im Volumenverhältnis 3:7) mit Konzentrationen von 50  $\mu\text{M}$  (**127** und **128**) bzw. 5  $\mu\text{M}$  (**129**) untersucht. Diese Proben enthielten Spuren von  $\text{Na}^+$  aus der Synthese, was im Massenspektrometer zur Bildung von  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ -Ionen ( $m/z = 531$ ) mit sehr hohen Intensitäten führte, daneben entstanden bei **127** auch in geringen Mengen  $[\text{M} + \text{K}]^+$  ( $m/z = 547$ ) und  $[\text{M} + \text{Na} + \text{MeOH}]^+$  ( $m/z = 563$ ) (**Abb. 5-12**).



**Abb. 5-12:** ESI-Massenspektren der Modellverbindungen **127**, **128** und **129**. a) **127**; b) **128**; c) **129**.

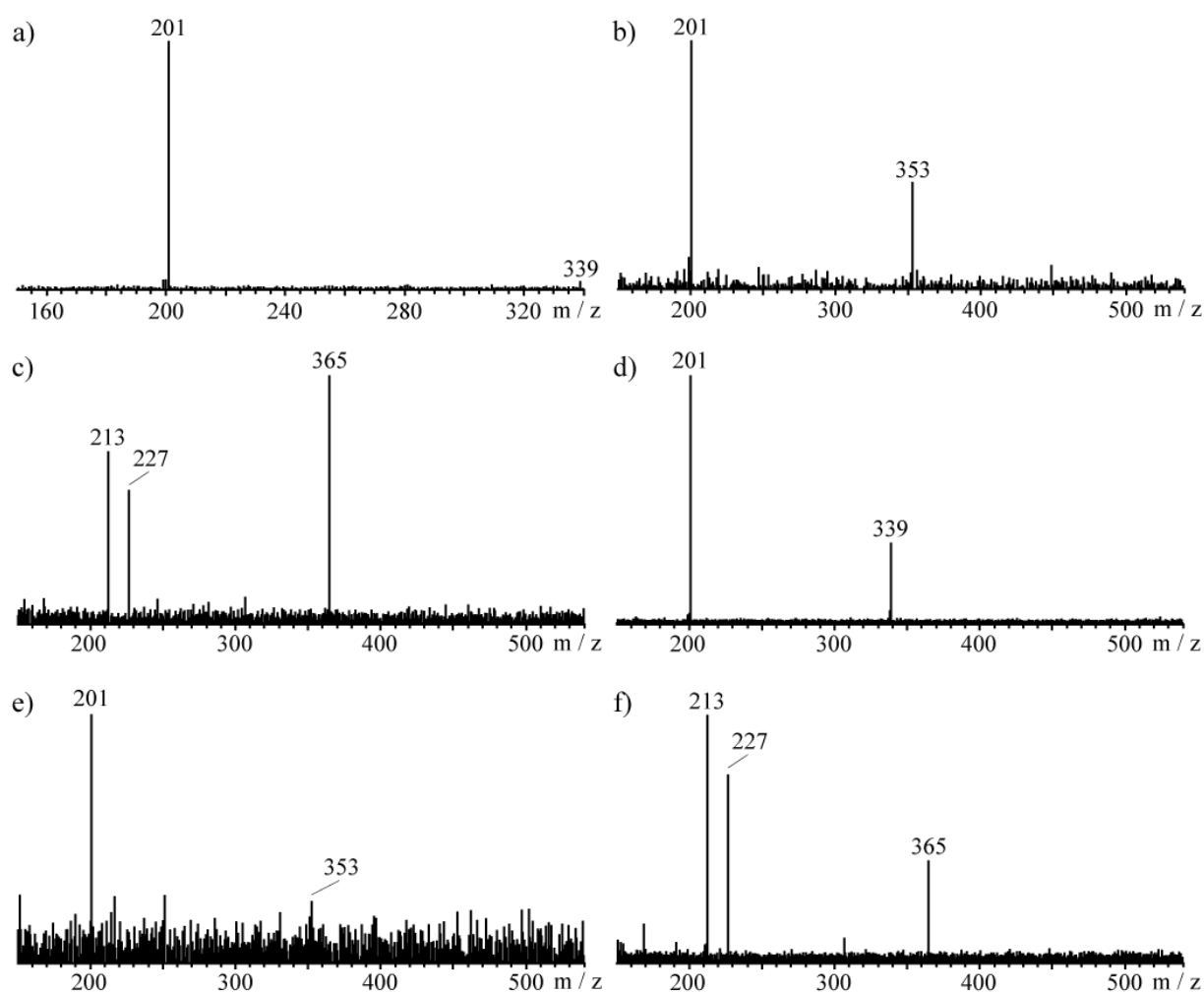
Um zusätzliche Informationen über die Struktur der Moleküle zu erhalten, wurden mit allen drei Proben verschiedene Fragmentierungsexperimente durchgeführt. Bei der Skimmerfragmentierung wurde die Beschleunigungsspannung zwischen Ionenquelle und Skimmer so gewählt, dass die kinetische Energie der Ionen ausreichte, um bei Zusammenstößen mit in diesem Bereich vorhandenen Lösungsmittel- oder Gasmolekülen stoßinduzierte Zerfälle zu erzielen. Genauere Untersuchungen der Fragmentierungsmuster

einzelner Ionen waren durch MS/MS-Experimente möglich. Dabei wurde das entsprechende Ion zunächst im Quadrupol isoliert und anschließend gezielt mittels kollisionsinduzierter Dissoziation (CID) fragmentiert. Beide Methoden lieferten  $[\text{DAG} - \text{H} + \text{Na}]^+$ - ( $m/z = 361, 375, 387$ ) sowie etwas schwächere  $[\text{DAG}]^+$ - und  $[\text{MAG}]^+$ -Ionen ( $m/z = 339, 353, 365$  bzw.  $201, 213, 227$ ), bei der Skimmerfragmentierung konnten zudem  $[\text{RCO}]^+$ -Ionen ( $m/z = 127, 139, 152$ ) beobachtet werden (**Abb. 5-13**). Anhand der relativen Intensitäten der drei  $[\text{DAG} - \text{H} + \text{Na}]^+$ -Fragmente konnten die Positionsisomere unterschieden werden: die Abspaltung der Fettsäure von der sekundären Hydroxylgruppe ist energetisch weniger günstig, das entsprechende Fragment-Ion war daher weniger intensiv. Diese Unterscheidung war auch für die  $[\text{DAG}]^+$ -Ionen aus der Skimmerfragmentierung möglich (wenn auch nicht ganz so deutlich), aber nicht für die aus MS/MS-Experimenten. Die relativen Intensitäten der  $[\text{MAG}]^+$ -Fragmente waren bei allen drei Modellverbindungen ähnlich.

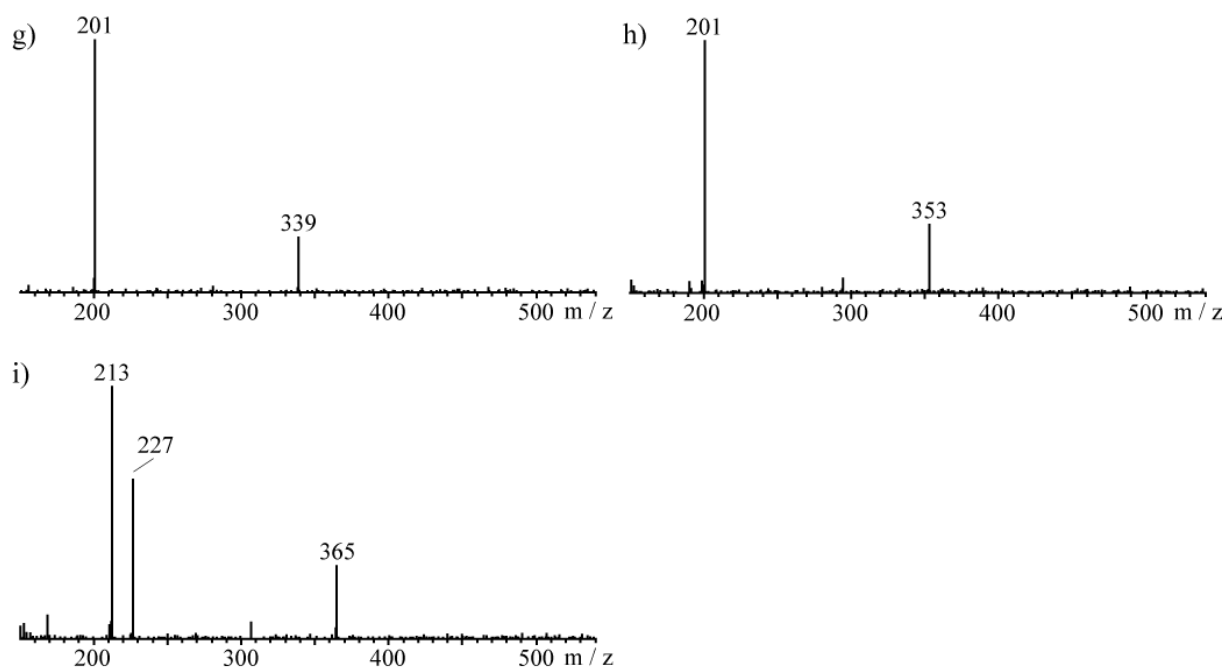


**Abb. 5-13:** ESI-MS der Modellverbindungen **127**, **128** und **129**: Vergleich von Skimmerfragmentierung und MS/MS. Skimmerfragmentierung von a) **127**; b) **128**; c) **129**; MS/MS der  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ -Ionen von d) **127**; e) **128**; f) **129**.

Auch eine MS/MS/MS-Untersuchung aller gebildeten  $[\text{DAG}]^+$ -Ionen zeigte, dass die Bildung von  $[\text{MAG}]^+$  nicht von der Position der Fettsäure im Triacylglycerid, sondern von ihrer Struktur abhängt (**Abb. 5-14**). Die Abspaltung der unverzweigten Octansäure (**21**) war deutlich benachteiligt, aus Diacylglycerid-Fragmenten, die diese Säure neben der 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**) oder der 3,7-Dimethyl-6-octensäure (**75**) enthielten, entstanden ausschließlich  $[\text{MAG}]^+$  mit  $m/z = 201$ . Das Diacylglycerid, das aus **69** und **75** bestand, lieferte bevorzugt  $[\text{MAG}]^+$  mit  $m/z = 213$ , was der Abspaltung der  $\alpha$ -verzweigten Fettsäure entspricht, während die Freisetzung der  $\beta$ -verzweigten Säure ( $[\text{MAG}]^+$  mit  $m/z = 227$ ) etwas weniger günstig erschien.

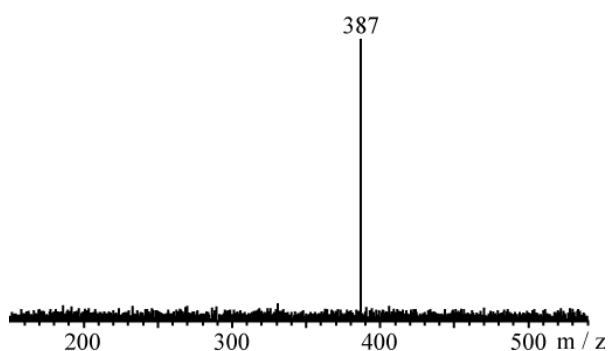


**Abb. 5-14:** ESI-MS/MS/MS der bei der MS/MS-Untersuchung der Modellverbindungen **127**, **128** und **129** gebildeten  $[\text{DAG}]^+$ -Ionen. **127**: a)  $m/z = 339$ ; b)  $m/z = 353$ ; c)  $m/z = 365$ ; **128**: d)  $m/z = 339$ ; e)  $m/z = 353$ ; f)  $m/z = 365$ .



**Abb. 5-14** (Fortsetzung): ESI-MS/MS/MS der bei der MS/MS-Untersuchung der Modellverbindungen **127**, **128** und **129** gebildeten  $[\text{DAG}]^+$ -Ionen. **129**: g)  $m/z = 339$ ; h)  $m/z = 353$ ; i)  $m/z = 365$ .

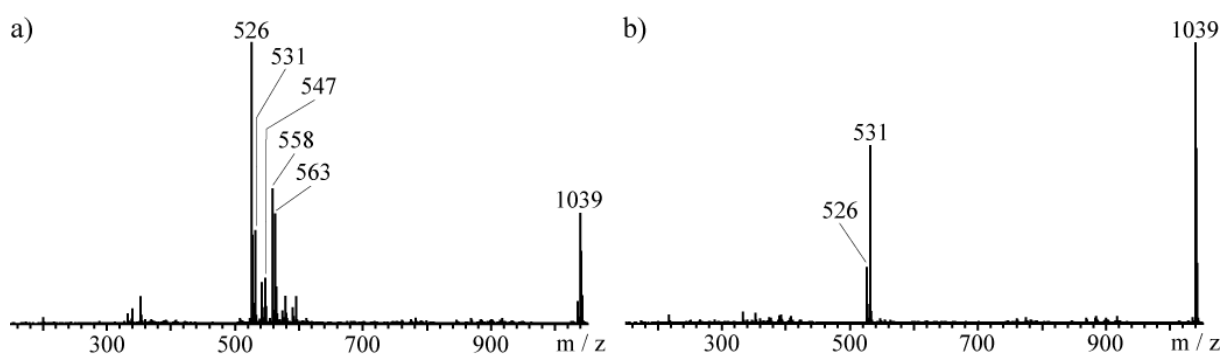
Die MS/MS/MS-Untersuchung der  $[\text{DAG} - \text{H} + \text{Na}]^+$ -Ionen ergab keine brauchbaren Informationen, da für die Fragmentierung dieser Ionen mehr Energie aufgewendet werden musste als für die  $[\text{DAG}]^+$ -Ionen und dadurch ausschließlich kleine Fragmente ohne relevante Strukturinformationen gebildet wurden (**Abb. 5-15**).



**Abb. 5-15**: ESI-MS/MS/MS eines bei der MS/MS-Untersuchung der Modellverbindung **128** gebildeten  $[\text{DAG} - \text{H} + \text{Na}]^+$ -Ions mit  $m/z = 387$ .

Die aussagekräftigen Ergebnisse der MS/MS-Experimente sind insofern sehr interessant, als dass DUFFIN und HENION berichteten, dass gute MS/MS-Spektren von  $[M + Na]^+$ -Ionen schwer zu erzeugen seien.<sup>[105]</sup>

Um die Eigenschaften von Ammoniumaddukten zu untersuchen, wurden weitere Massenspektren unter Zugabe unterschiedlicher Mengen Ammoniumformiat (100  $\mu$ M bei **127** und 10  $\mu$ M bei **128**) aufgenommen. Bei **127** war das  $[M + NH_4]^+$ -Ion ( $m/z = 526$ ) der Hauptpeak, daneben lagen jedoch auch  $[M + Na]^+$  ( $m/z = 531$ ) sowie  $[M + K]^+$  ( $m/z = 547$ ),  $[M + NH_4 + MeOH]^+$  ( $m/z = 558$ ),  $[M + Na + MeOH]^+$  ( $m/z = 563$ ) und  $[2 M + Na]^+$  ( $m/z = 1039$ ) vor (**Abb. 5-16 a**). Bei **128** führte die geringere Ammoniumkonzentration dazu, dass bevorzugt Natriumaddukte gebildet wurden (**Abb. 5-16 b**). Der Hauptpeak entsprach dabei  $[2 M + Na]^+$ , außerdem war ein etwas schwächeres  $[M + Na]^+$ -Ion sowie mit deutlich geringerer Intensität ein  $[M + NH_4]^+$ -Ion vorhanden.

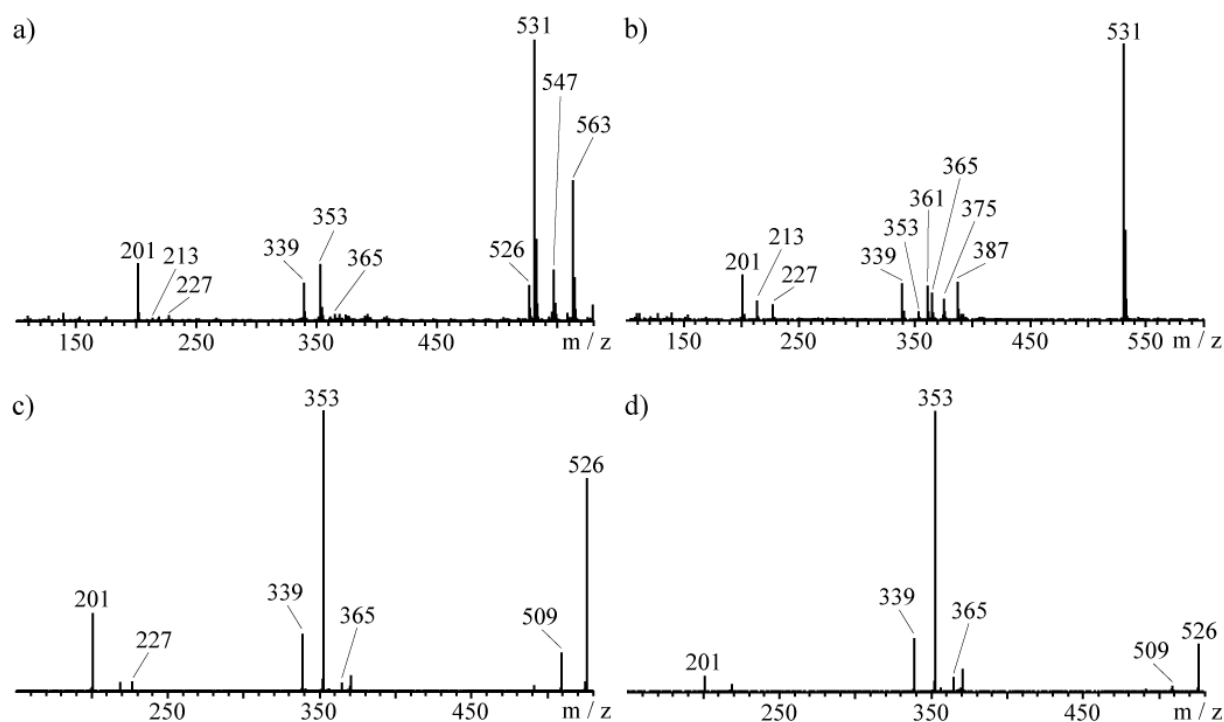


**Abb. 5-16:** ESI-Massenspektren der Modellverbindungen **127** und **128** unter Zugabe von Ammoniumformiat. a) **127**; b) **128**.

Die Skimmerfragmentierung führte bei **127** wie auch bei **128** zur Bildung von  $[DAG]^+$ - und  $[MAG]^+$ -Fragmenten ( $m/z = 339, 353, 365$  bzw.  $201, 213, 227$ ); die relativen Intensitäten der Peaks innerhalb dieser beiden Gruppen waren bei **127** und **128** identisch, so dass eine Unterscheidung der Positionsisomere nicht möglich war (**Abb. 5-17 a, b**). Bei **128** traten zusätzlich  $[DAG - H + Na]^+$ -Ionen ( $m/z = 361, 375, 387$ ) auf. Es zeigte sich, dass wie erwartet unter den gewählten Fragmentierungsbedingungen die Ammoniumaddukte zerfielen, während die deutlich stabileren Natriumaddukte nicht angegriffen wurden.<sup>[105]</sup> In beiden Spektren war deshalb  $[M + Na]^+$  der Hauptpeak, bei **127** wurde er von  $[M + Na + MeOH]^+$  und, mit geringerer Intensität,  $[M + K]^+$  begleitet; das Dimer, das zum Auftreten von  $[2 M + Na]^+$  führte, konnte nicht mehr beobachtet werden. Eine Untersuchung der  $[M + NH_4]^+$ -Ionen mit MS/MS ergab für **127** und **128** sehr ähnliche Massenspektren

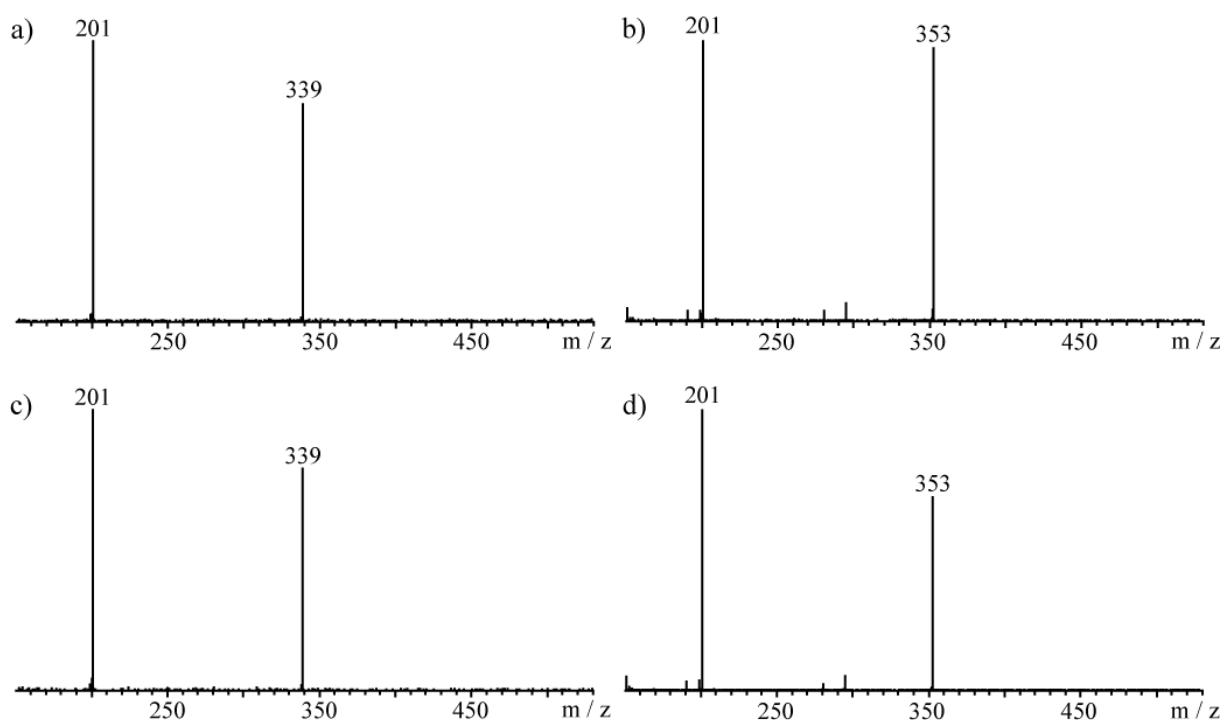


(Abb. 5-17 c, d). Offensichtlich hing die Abspaltung der Fettsäuren aus den Triacylglyceriden unter Bildung von  $[\text{DAG}]^+$  wie auch deren weiterer Zerfall zu  $[\text{MAG}]^+$  nur von der Struktur der jeweiligen Säure ab, nicht von ihrer Position im Molekül; aus dem  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ -Ion wurde dabei bevorzugt die 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**) abgespalten. Dies entspricht den Beobachtungen von DUFFIN und HENION sowie von CHENG und GROSS<sup>[105, 106]</sup>; HVATTUM sowie BYRDWELL und NEFF beschreiben hingegen das Gegenteil.<sup>[103, 104]</sup> Bei den  $[\text{MAG}]^+$ -Ionen sah das Bild genauso aus wie bei den Messungen ohne Ammoniumzugabe: bei **128** entstand ausschließlich ein  $[\text{MAG}]^+$  mit  $m/z = 201$  (entspricht **69**), bei **127** wurde dies begleitet von  $[\text{MAG}]^+$  mit  $m/z = 227$  (entspricht 3,7-Dimethyl-6-octensäure (**75**)) in sehr geringer Menge.



**Abb. 5-17:** ESI-MS der Modellverbindungen **127** und **128** unter Zugabe von Ammoniumformiat: Vergleich von Skimmerfragmentierung und MS/MS. Skimmerfragmentierung von a) **127**; b) **128**; MS/MS der  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ -Ionen von c) **127**; d) **128**.

MS/MS/MS-Untersuchungen der mit ausreichender Intensität auftretenden  $[\text{DAG}]^+$ -Ionen aus beiden Proben ( $m/z = 339$  und  $353$ ) bestätigten dieses Ergebnis (Abb. 5-18): hier konnte nur ein  $[\text{MAG}]^+$ -Ion mit  $m/z = 201$  beobachtet werden.

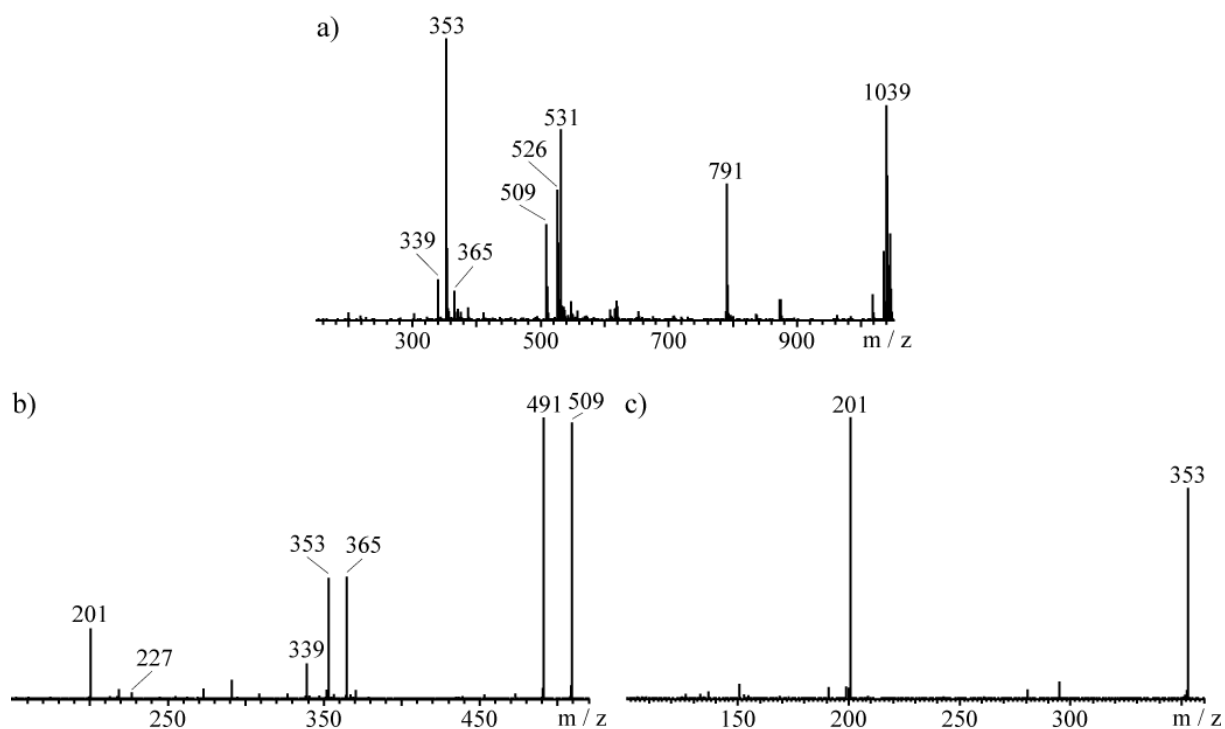


**Abb. 5-18:** ESI-MS/MS/MS der bei der MS/MS-Untersuchung der Modellverbindungen **127** und **128** unter Zugabe von Ammoniumformiat gebildeten  $[\text{DAG}]^+$ -Ionen. **127**: a)  $m/z = 339$ ; b)  $m/z = 353$ ; **128**: c)  $m/z = 339$ ; d)  $m/z = 353$ .

Eine weitere Möglichkeit zur massenspektrometrischen Untersuchung der Triacylglyceride war ESI-MS unter Säurezugabe, wobei  $[\text{M} + \text{H}]^+$ -Ionen gebildet werden sollten. Dafür wurde eine Lösung von **129** in Acetonitril mit Ameisensäure versetzt. Das resultierende Massenspektrum zeigte jedoch, dass neben  $[\text{M} + \text{H}]^+$  ( $m/z = 509$ ) auch  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$  ( $m/z = 526$ ),  $[\text{M} + \text{Na}]^+$  ( $m/z = 531$ ) und  $[2 \text{ M} + \text{Na}]^+$  ( $m/z = 1039$ ) mit höherer Intensität als das erwartete Protonenaddukt entstanden sind. Zudem trat bereits eine Fragmentierung zu  $[\text{DAG}]^+$ -Ionen ( $m/z = 339, 353, 365$ ) auf (**Abb. 5-19 a**).

Die Durchführung von MS/MS-Experimenten erwies sich als schwierig, da in der Transferoptik ein deutlicher Zerfall auftrat. Es konnte kein  $[\text{M} + \text{H}]^+$ -Ion mehr beobachtet werden, stattdessen lagen  $[\text{M}]^+$  ( $m/z = 508$ ) sowie  $[\text{DAG}]^+$  und  $[\text{MAG}]^+$  ( $m/z = 201, 213, 227$ ) vor. Um dennoch Sekundärzerfälle untersuchen zu können, wurde eine direkte Isolierung des  $[\text{M} + \text{H}]^+$ -Ions durchgeführt. Das MS/MS-Spektrum zeigte, dass beim Zerfall von  $[\text{M} + \text{H}]^+$  wie erwartet die Abspaltung der Fettsäure von der sekundären Position benachteiligt war, während die Bildung der  $[\text{MAG}]^+$ -Fragmente aus  $[\text{DAG}]^+$  nur von der Struktur der Säure abhing (**Abb. 5-19 b, c**). Des Weiteren trat ein Ion mit  $[\text{M} + \text{H} - 18]^+$  ( $m/z = 491$ ) auf. Aufgrund der geringen Stabilität des  $[\text{M} + \text{H}]^+$ -Ions und des damit verbundenen erhöhten

Aufwands für die Durchführung von MS/MS-Messungen ist diese Methode jedoch nicht für die Analyse komplexer Substanzgemische geeignet.

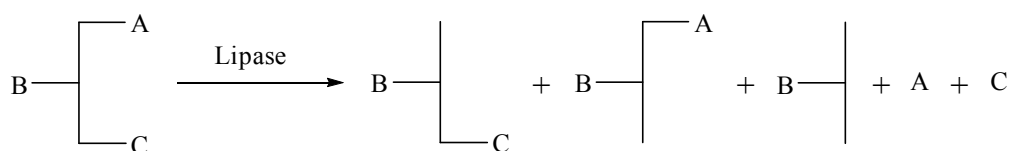


**Abb. 5-19:** ESI-MS-Untersuchung der Modellverbindung **129** unter Zugabe von Ameisensäure. a) MS; MS/MS der Ionen mit b)  $m/z = 509$ ; c)  $m/z = 353$ .

### 5.3 Regio- und stereospezifische Analyse der Triacylglyceride

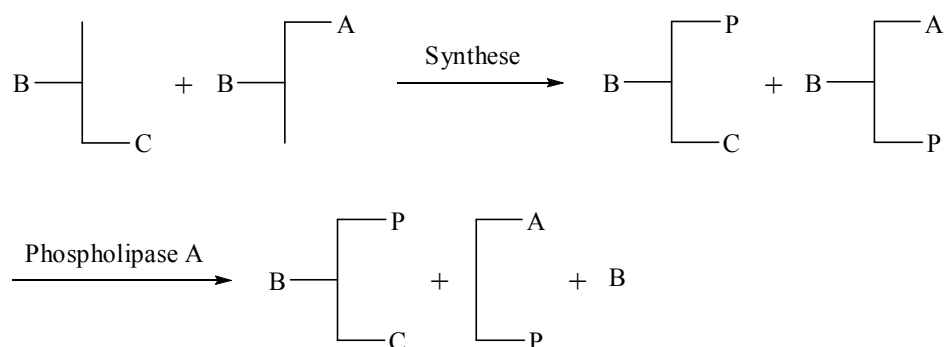
Die bisher beschriebenen Methoden zur Untersuchung der Verteilung der Fettsäuren innerhalb eines Triacylglycerids (NMR und Massenspektrometrie) waren rein analytischer Natur. Daneben gibt es aber auch verschiedene Strategien, die Positionsverteilung der Fettsäuren mit Hilfe von Spaltungs- und Derivatisierungsreaktionen zu bestimmen. Diesen liegt das Konzept zugrunde, die Triacylglyceride gezielt zu spalten und die dabei entstehenden Bruchstücke (je nach Reaktionsbedingungen Di- bzw. Monoacylglyceride sowie Fettsäuren) zu analysieren. Die Selektivität der Spaltung kann durch Wahl geeigneter Reagenzien gesteuert werden.

Bei den ersten in der Literatur beschriebenen Reaktionen zur Aufklärung der Fettsäureverteilung handelt es sich um enzymkatalysierte Spaltungen. Meist wird dabei Lipase aus dem Pankreas von Schweinen verwendet, diese greift bevorzugt die Positionen *sn*-1 und *sn*-3 des Triacylglycerids an (Abb. 5-20).<sup>[107, 108]</sup> Die Reaktionsprodukte können chromatographisch getrennt werden, ihre Fettsäurezusammensetzung wird nach Umesterung der einzelnen Fraktionen mittels GC/MS bestimmt. Der prozentuale Anteil der einzelnen Säuren an *sn*-2 und an *sn*-1 / *sn*-3 kann dann aus den Ergebnissen berechnet werden.



**Abb. 5-20:** Spaltung eines Triacylglycerids mit Lipase aus Schweinepankreas. A, B, C = Fettsäuregruppen.

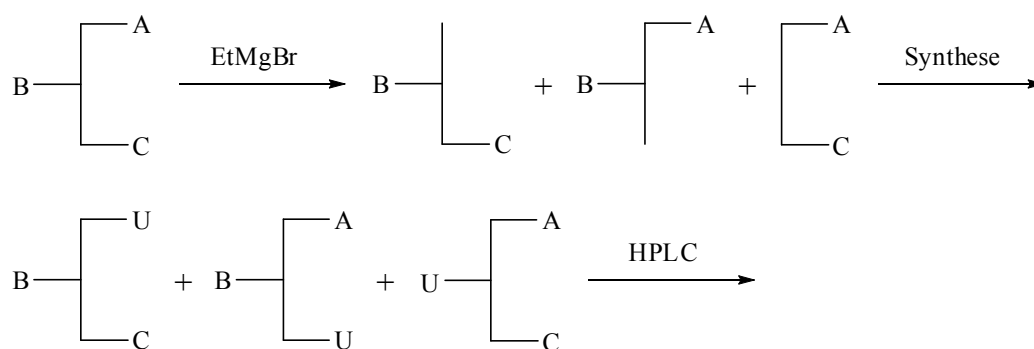
Ausgehend von der oben beschriebenen enzymatischen Spaltung der Triacylglyceride ist auch eine Unterscheidung der beiden primären Positionen möglich (Abb. 5-21).<sup>[107, 109]</sup> Dazu werden die gebildeten Diacylglyceride zu den entsprechenden Phosphatidylphenol- oder Phosphatidylcholin-Derivaten umgesetzt. Die „natürlichen“ 1,2-Diacyl-*sn*-glycerophosphatide können dann selektiv mit Phospholipase A aus Schlangengift hydrolysiert werden, wobei die Abspaltung an *sn*-2 erfolgt. Nach der Trennung der Produkte können die einzelnen Fraktionen umgeestert und gaschromatographisch untersucht werden.



**Abb. 5-21:** Stereospezifische Analyse eines Triacylglycerids mit Hilfe enzymatischer Spaltungen. A, B, C = Fettsäuregruppen, P = Phosphatidylgruppe.

Damit die beiden genannten Methoden zuverlässige Ergebnisse liefern, ist es wichtig, dass die Abspaltung aller Fettsäuren mit der gleichen Geschwindigkeit verläuft. Außerdem dürfen bei den gewählten Reaktionsbedingungen keine Acylwanderungen auftreten. Bei enzymkatalysierten Spaltungen tritt jedoch eine Verlangsamung der Reaktion bei sterischer Hinderung durch funktionelle Gruppen wie Methylverzweigungen oder Doppelbindungen in der Nähe der Esterbindung auf, daher sind sie für die hier vorliegenden Naturproben nicht geeignet.

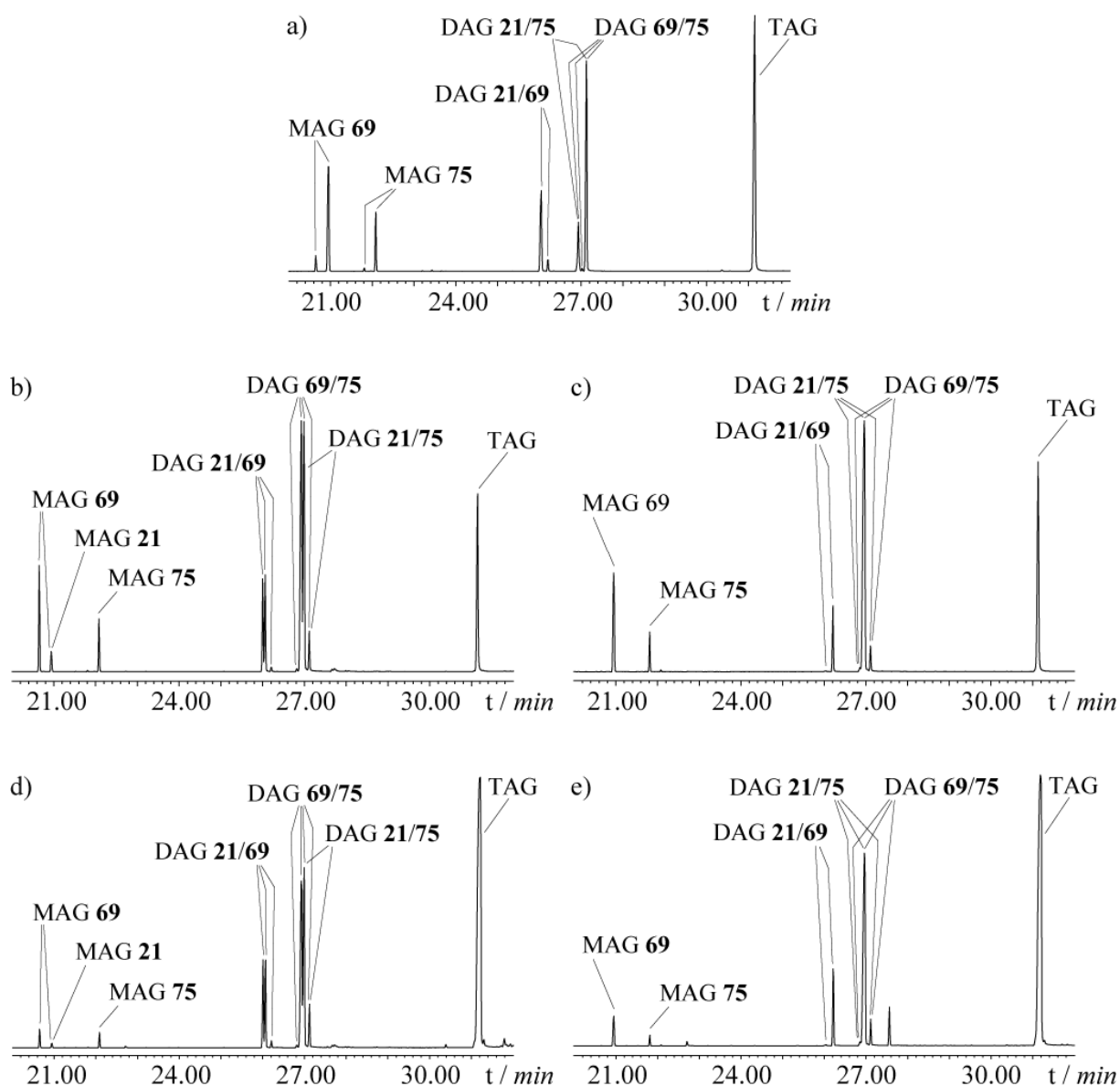
Eine weitere Möglichkeit zur Aufklärung der Verteilung der Fettsäuren innerhalb der Triacylglyceride ist der chemische Abbau (**Abb. 5-22**).<sup>[107, 110, 111, 112, 113]</sup> Die Umsetzung von Triacylglyceriden mit Ethylmagnesiumbromid führt zur Abspaltung von Fettsäuren (in Form der entsprechenden tertiären Alkohole). Die dabei entstehenden Diacylglyceride können dann im nächsten Schritt mit (*S*)-(+)-1-(1-Naphthyl)ethylisocyanat in die entsprechenden Urethan-Derivate überführt werden. Nach der Abtrennung von Verunreinigungen mittels Festphasenextraktion können die 1,3-, 1,2- und 2,3-Diacyl-*sn*-glyceridderivate durch HPLC getrennt werden. Dabei ist die Unterscheidung der 1,2- und 2,3-Diacyl-*sn*-glyceride in einer achiralen Umgebung möglich, da die Verwendung des chiralen Derivatisierungsreagenzes zur Entstehung diastereomerer Urethan-Derivate führt. Die gaschromatographische Untersuchung der durch Umesterung der HPLC-Fractionen erhaltenen Methylester ermöglicht schließlich die Berechnung des Anteils einer jeden Fettsäure an einer bestimmten Position. Auch hier muss die Abspaltung aller Fettsäuren mit der gleichen Geschwindigkeit verlaufen, Acylwanderungen müssen vermieden werden; dies sollte laut Literatur bei dieser Methode gewährleistet sein.<sup>[107]</sup> Außerdem darf die Hydrolyse nicht zu weit fortschreiten, da sonst in zunehmendem Maße auch Monoacylglyceride gebildet werden.



**Abb. 5-22:** Stereospezifische Analyse eines Triacylglycerids mit ausschließlich chemischen Methoden. A, B, C = Fettsäuregruppen, U = Naphthylethylurethangruppe.

Um die Anwendbarkeit der chemischen Abbaumethode auf die vorliegenden Naturproben zu überprüfen, wurden die drei Modellverbindungen **127**, **128** und **129** mit Ethylmagnesiumbromid umgesetzt. Die Reaktionsprodukte wurden zur Verbesserung ihrer chromatographischen Eigenschaften mit *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoracetamid (MSTFA) derivatisiert (dabei wurden acide Protonen gegen Trimethylsilylgruppen ausgetauscht). Die Derivate wurden dann mittels GC/MS untersucht. Die Gaschromatogramme sind in **Abb. 5-23** dargestellt. Bei der Kennzeichnung der Peaks steht MAG **21** für das an beiden Hydroxyfunktionen trimethylsilylierte Monoacylglycerid der Octansäure (**21**), DAG **21/69** für das einfach trimethylsilylierte Diacylglycerid von Octansäure (**21**) und 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**) und TAG für das nicht hydrolysierte Triacylglycerid.

Eine Übersicht über die bei der Spaltung mit Ethylmagnesiumbromid erhaltenen Produkte gibt **Tabelle 5-4**. Die prozentualen Anteile der einzelnen Komponenten am Produktgemisch wurden anhand der Gaschromatogramme (bei Koelutionen unter Zuhilfenahme von Ionenspuren) bestimmt. Um optimale Ergebnisse für die stereospezifische Analyse zu erhalten, sollte das Triacylglycerid zu etwa 50 % gespalten werden.<sup>[107]</sup> Da die Hydrolyse nach 60 Sekunden zu weit fortgeschritten war (das intakte Triacylglycerid machte lediglich zwischen 17.3 % und 38.9 % der Produktgemische aus) (**Abb. 5-23 a - c**), wurde die Reaktionszeit auf 30 Sekunden verkürzt. Dies führte zu einem Triacylglyceridanteil von 53.8 % bzw. 59.9 % im Produkt (**Abb. 5-23 d, e**).



**Abb. 5-23:** Gaschromatographische Untersuchung der Produkte aus der Spaltung der Modellverbindungen **127**, **128** und **129** mit Ethylmagnesiumbromid an unpolarer Phase (BPX-5; Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 10 °C/Min. bis 320 °C). a) **127** (Reaktionsdauer 60 s); b) **128** (60 s); c) **129** (60 s); d) **128** (30 s); e) **129** (30 s).

**Tabelle 5-4:** Zusammensetzung der Produktgemische aus den Spaltungen der Modellverbindungen **127**, **128** und **129** mit Ethylmagnesiumbromid. Anteile in %.

Verbindung	Reaktionsdauer	MAG			DAG			TAG
		<b>21</b>	<b>69</b>	<b>75</b>	<b>21/69</b>	<b>21/75</b>	<b>69/75</b>	
<b>127</b>	60 s	0.00	15.15	5.29	11.70	5.37	23.62	38.89
<b>128</b>	60 s	0.68	7.98	3.46	13.71	2.25	54.64	17.30
<b>129</b>	60 s	0.80	11.21	3.27	5.83	7.31	45.05	26.55
<b>128</b>	30 s	0.19	1.13	0.81	10.26	2.52	31.33	53.76
<b>129</b>	30 s	0.31	2.22	0.68	5.91	5.80	25.16	59.92

Wenn die Geschwindigkeit der Abspaltung für alle drei Fettsäuren gleich wäre, so würden alle drei Diacylglyceride in der gleichen Menge gebildet werden. Das gleiche würde für die Monoacylglyceride gelten. Es zeigte sich jedoch, dass dies hier nicht der Fall war. Offensichtlich wurde die unverzweigte Octansäure (**21**) am leichtesten abgespalten. Methylverzweigungen hemmten die Spaltung umso stärker, je geringer ihr Abstand zur Esterbindung war: die in  $\beta$ -Position verzweigte 3,7-Dimethyl-6-octensäure (**75**) wurde leichter angegriffen als die in  $\alpha$ -Position verzweigte 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**). Eine stereospezifische Analyse der in den Naturproben enthaltenen Triacylglyceride anhand der Spaltung mit Ethylmagnesiumbromid ist daher nicht möglich.



## 5.4 Untersuchung der Naturproben

Ausgehend von den zuvor durchgeführten Untersuchungen zu den chromatographischen Eigenschaften der Triacylglyceride (siehe Kapitel 5.1) wurde ein Konzept zur Auftrennung der Sekretproben entwickelt. Da strukturverwandte Verbindungen, die sich lediglich in der Doppelbindungsanzahl unterschieden, in der Gaschromatographie zur Koelution neigten, sollten die Naturproben zunächst einer Silberionenchromatographie im Mikromaßstab unterzogen werden. Die hierbei entstandenen Fraktionen, die jeweils Moleküle mit gleicher oder ähnlicher Anzahl von Unsättigungen enthielten, sollten dann gaschromatographisch weiter aufgetrennt werden.

Um die Fettsäurezusammensetzung der natürlichen Triacylglyceride zu bestimmen, wurde die Gaschromatographie mit Massenspektrometrie (GC/MS) gekoppelt; dabei wurden zwei Ionisierungsmethoden verwendet (siehe auch Kapitel 5.2). Die Chemische Ionisation (CI-MS) diente zur Bestimmung der Molekulargewichte, da im CI-Massenspektrum der Triacylglyceride bei Verwendung von Ammoniak als Reaktandgas  $[M + \text{NH}_4]^+$ -Ionen mit relativ hohen Intensitäten auftraten. Die Elektronenstoß-Ionisation (EI-MS) ermöglichte die Ermittlung der Massen der einzelnen Fettsäuregruppen einer Verbindung anhand ihres Fragmentierungsmusters im Massenspektrum. Es konnten stets drei Gruppen charakteristischer Peaks beobachtet werden; dabei handelte es sich um Fragmente der Zusammensetzung  $[M - \text{RCOO}]^+$  bzw.  $[M - \text{RCOO} - 1]^+$  (Abspaltung einer Acyloxygruppe),  $[\text{RCO} + 74]^+$  (Verlust einer weiteren Acyloxygruppe) sowie  $[\text{RCO}]^+$  bzw.  $[\text{RCO} - 1]^+$ .

In den Sekretproben waren z. T. mehr als hundert Triacylglyceride enthalten; dies führte aufgrund der großen Ähnlichkeit der Verbindungen zu Problemen bei der genauen Strukturaufklärung. So konnte die Silberionenchromatographie als erster Trennschritt nur bei den Naturproben angewendet werden, die in ausreichender Menge und Konzentration vorlagen. Ein Vergleich der Gaschromatogramme der Sekretproben mit denen der aus ihnen erhaltenen Fraktionen zeigte zudem, dass einige Komponenten nach der Trennung nicht mehr nachgewiesen werden konnten; hierbei handelte es sich insbesondere um Verbindungen mit einer geringen Anzahl an Doppelbindungen. Es war daher notwendig, alle Naturproben auch direkt einer GC/EI-MS-Analyse zu unterziehen. Die Auswertung der dabei gewonnenen Daten gestaltete sich aufgrund der vielfach auftretenden Koelutionen kompliziert.

Die Grundlage für die Aufstellung von Strukturvorschlägen für die natürlichen Triacylglyceride war die bereits zuvor ermittelte Fettsäurezusammensetzung der einzelnen Sekrete (vgl. **Tabelle 4-6**). Auf dieser Basis erfolgte zunächst die Betrachtung der mittels

Silberionen-Chromatographie gewonnenen Fraktionen. Die so erstellten Triacylglyceridprofile wurden anschließend anhand der GC/EI-MS-Daten der entsprechenden unbehandelten Proben vervollständigt. Danach wurden die Inhaltsstoffe aller übrigen Sekretproben ermittelt. Die Strukturhypothesen sowie ihre Retentionsindices wurden mit den bereits in anderen Proben nachgewiesenen Verbindungen verglichen und gegebenenfalls verworfen.

Ein besonderes Problem bei der Auswertung der Massenspektren stellten (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäure (**76**) und (*Z*)-4-Decensäure (**24**) aufgrund ihrer identischen Masse dar. Um dieses zu lösen, wurde die Beobachtung ausgenutzt, dass Triacylglyceride mit identischem Kohlenstoffgerüst, die sich nur in der Anzahl der Doppelbindungen unterschieden, zu Koelutionen neigten. Es wurde angenommen, dass ein Triacylglycerid die einfach ungesättigte Säure **24** enthielt, wenn in derselben Probe eine analoge Verbindung mit der zweifach ungesättigten (4*Z*,7*Z*)-4,7-Decadiensäure (**130**) anstelle von **24** nachgewiesen werden konnte, die einen sehr ähnlichen Retentionsindex aufwies. Nicht alle Sekrete beinhalten derartige Verbindungen und ermöglichten so eine Zuordnung der fraglichen Komponenten, daher wurden die Unterschiede zwischen den Massenspektren der bereits aufgeklärten Moleküle mit **24** oder **76** ermittelt. Es zeigte sich, dass bei Triacylglyceriden, die **76** enthielten, die Ionen mit  $m/z = 94$  und  $95$  eine größere Intensität aufwiesen als das Ion mit  $m/z = 97$ , während das Verhältnis bei Verbindungen mit **24** genau umgekehrt war. Des Weiteren lieferten erstere meist bevorzugt ein  $[\text{RCO} - 1]^+$ -Fragment ( $m/z = 152$ ), während bei letzteren üblicherweise  $[\text{RCO} - 2]^+$  ( $m/z = 151$ ) oder  $[\text{RCO} - 3]^+$  ( $m/z = 150$ ) vorherrschten. Diese Charakteristika erlaubten schließlich die Zuordnung aller bislang nicht identifizierten Verbindungen mit **24** und **76**. Eine Unterscheidung von (*E*)- und (*Z*)-4-Octensäure (**22** und **23**) anhand der Massenspektren war aufgrund des identischen Fragmentierungsmusters nicht möglich.

Einen Überblick über die Triacylglyceridzusammensetzung der untersuchten Cloacaldrüsensekrete gibt **Tabelle 5-5** (eine Liste der Naturproben befindet sich in **Tabelle 3-1**). Die Bezeichnung **22o.23/116/116** steht beispielsweise für ein Triacylglycerid, das einmal die Fettsäure **22** oder **23** und zweimal **116** enthält; die Position der Säuren im Molekül wurde nicht bestimmt. Aufgrund der bei der Gaschromatographie auftretenden Koelutionen konnten die Naturstoffe nur qualitativ erfasst werden, eine quantitative Untersuchung der Proben war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

**Tabelle 5-5:** Triacylglyceridzusammensetzung der untersuchten Cloacaldrüsensekrete (bestimmt durch GC/MS-Analyse unter Verwendung einer unpolaren Phase (BPX-5; Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C)). n.d. = M<sup>+</sup>-Ion konnte im Massenspektrum nicht detektiert werden.

RI	Triglycerid	M <sup>+</sup>	Probennummer																		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
2726	70/70/70	n.d.		X																	
2727	21/22o.23/22o.23	n.d.		X													X				
2808	116/116/116	n.d.				X												X			
2830	22o.23/22o.23/70	478					X	X	X	X	X										X
2831	22o.23/22o.23/22o.23	464					X	X	X	X	X									X	
2836	21/22o.23/22o.23	n.d.					X												X		
2844	22o.23/116/116	n.d.	X			X	X	X	X	X	X						X			X	
2847	21/22o.23/116	n.d.										X	X								
2849	22o.23/22o.23/116	n.d.			X																X
2849	21/116/116	n.d.	X		X	X	X	X	X	X			X			X		X			
2850	22o.23/116/116	n.d.	X			X		X	X							X	X				
2874	22o.23/70/116	494	X			X		X	X	X	X					X	X	X			
2891	22o.23/22o.23/116	n.d.				X	X								X		X			X	
2891	21/22o.23/70	480				X				X	X						X				
2892	21/70/116	496	X					X	X												
2893	21/22o.23/116	n.d.		X		X		X				X				X	X		X		X
2895	21/21/116	n.d.											X			X					
2905	50/116/116	n.d.				X	X										X				X
2907	22o.23/70/116	494	X			X	X		X	X								X			
2919	50/116/116	n.d.	X			X	X									X	X				
2929	21/22o.23/22o.23	466				X	X								X	X	X				
2930	21/21/22o.23	n.d.											X								
2935	22o.23/70/70	492																			
2940	21/21/70	482	X				X	X	X				X				X				X
2943	21/22o.23/70	480	X		X		X	X	X	X	X			X			X	X		X	X
2943	50/70/116	492					X	X											X		
2944	22o.23/22o.23/70	478	X		X		X	X	X	X	X			X			X	X		X	X
2945	22o.23/22o.23/22o.23	464				X											X	X		X	X
2945	21/70/70	494	X						X	X	X			X					X	X	X
2949	22o.23/70/70	492	X		X				X	X	X								X	X	X
2949	70/76/116	n.d.															X				
2958	22o.23/50/116	478	X					X	X												X
2960	50/70/116	492	X		X		X	X	X	X	X								X	X	X
2962	21/21/50	466																			X

Tabelle 5-5 (Fortsetzung)

RI	Triglycerid	M <sup>+</sup>	Probennummer																		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
2964	21/50/116	n.d.													X						X
2968	50/50/70	474															X				X
2971	22o.23/22o.23/22o.23	464														X					
2977	76/116/116	n.d.		X														X			
2990	22o.23/22o.23/50	462	X				X							X	X				X		X
2990	21/22o.23/50	464				X									X						
3000	22o.23/76/116	n.d.		X		X	X							X	X						
3002	22o.23/50/70	476	X	X		X	X	X						X							X
3002	50/70/70	490	X	X		X	X	X						X							X
3009	21/76/116	n.d.	X			X	X				X	X			X			X			
3010	22o.23/50/70	476					X			X		X	X	X		X	X		X		X
3010	21/50/70	478	X	X				X				X	X	X		X	X		X		
3011	22o.23/22o.23/50	462			X		X					X	X	X		X	X		X		
3011	50/70/70	490		X	X		X			X		X	X	X		X	X		X		
3014	21/22o.23/50	464													X						
3014	24/70/116	522															X		X		
3020	22o.23/70/76	506	X							X		X				X					
3021	22o.23/22o.23/76	492	X					X									X				
3031	21/22o.23/76	494														X					
3034	22o.23/76/116	n.d.	X																		
3044	21/21/76	n.d.													X						
3046	21/70/76	508				X						X	X			X	X				
3051	22o.23/70/76	506			X	X	X					X	X	X		X	X	X	X		
3053	70/70/76	520		X	X		X					X	X	X		X	X	X	X		
3063	22o.23/22o.23/76	492														X					
3066	21/24/116	n.d.				X	X	X		X					X					X	X
3069	22o.23/24/116	508	X	X		X	X	X			X				X		X			X	X
3070	22o.23/116/130	n.d.						X												X	X
3074	22o.23/50/50	460	X		X								X	X				X		X	X
3074	50/50/70	474	X		X								X	X				X		X	X
3074	21/116/130	n.d.																			X
3076	22o.23/22o.23/24	492																			
3076	116/116/117	538		X																	
3081	21/22o.23/76	494		X														X			

Tabelle 5-5 (Fortsetzung)

RI	Triglycerid	M <sup>+</sup>	Probennummer																		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
3110	24/70/70	520																			
3110	22o.23/22o.23/130	490					X														
3110	21/22o.23/130	492					X														
3110	21/70/130	n.d.					X														
3114	22o.23/116/117	n.d.		X	X	X								X		X					
3114	21/116/117	n.d.			X	X								X		X					
3115	21/22o.23/24	494	X	X		X	X					X		X						X	
3116	22o.23/22o.23/24	492	X	X	X	X	X		X			X	X	X		X		X	X	X	
3118	22o.23/24/70	506	X	X	X		X	X		X	X	X	X		X		X	X	X	X	
3121	50/76/116	506				X															
3123	22o.23/70/117	520																	X		
3125	21/24/70	508	X	X				X				X			X			X	X	X	
3125	21/22o.23/117	508										X	X								
3126	22o.23/70/130	n.d.	X		X		X	X		X	X	X	X			X			X	X	
3126	70/70/130	518	X							X		X	X								
3136	24/24/116	536							X												
3137	24/50/116	506	X	X		X	X	X			X										
3157	22o.23/22o.23/117	506					X					X				X	X				
3157	21/22o.23/117	508				X	X	X				X	X	X	X	X	X				
3157	22o.23/70/117	520			X		X	X		X	X	X	X		X	X	X	X	X		
3160	21/21/117	510				X								X		X					
3160	21/70/117	522					X				X	X	X		X	X	X	X	X		
3161	70/70/117	534							X		X	X	X		X	X		X	X		
3171	22o.23/50/76	490					X							X							
3175	76/76/116	n.d.					X	X						X	X						
3184	21/50/76	492											X	X	X	X					
3184	50/116/117	520				X							X	X		X	X				
3189	22o.23/24/50	490					X									X					
3189	24/50/70	504	X	X	X		X	X		X	X	X	X		X		X	X	X	X	
3190	70/76/76	534	X										X		X		X				
3190	22o.23/24/50	490	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
3198	22o.23/24/70	506																			
3200	22o.23/50/130	488	X		X			X	X	X	X	X				X			X	X	
3200	50/70/130	502	X		X			X	X	X	X	X							X	X	

Tabelle 5-5 (Fortsetzung)

RI	Triglycerid	M <sup>+</sup>	Probennummer																		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
3205	50/70/76	504					X					X								X	
3205	22o.23/24/116	508	X					X	X												X
3207	22o.23/50/117	504				X								X							
3219	70/76/117	548				X	X	X	X					X	X						
3222	50/70/117	518										X						X			
3224	76/116/117	n.d.				X								X					X	X	
3226	24/70/76	n.d.								X	X								X	X	
3226	21/50/117	506				X								X							
3236	70/76/130	532			X				X	X		X	X		X			X			
3238	50/50/76	488							X			X									
3251	116/116/118	580				X											X				
3252	24/50/50	488	X		X			X	X	X	X	X						X			X
3255	76/116/130	534															X				
3257	70/117/130	546							X	X											
3260	24/70/117	548							X			X	X		X					X	
3263	21/76/117	536				X	X										X	X			
3266	22o.23/76/117	534				X		X							X						
3274	50/76/76	518	X												X						
3290	22o.23/116/118	564	X				X	X		X					X	X					X
3292	22o.23/24/24	520	X		X	X	X	X	X	X	X	X			X	X		X	X		X
3292	21/116/118	n.d.				X								X							
3300	22o.23/24/130	518	X					X	X		X	X	X					X			
3301	22o.23/116/119	562																			
3302	21/24/24	522										X					X				X
3302	22o.23/130/130	516		X									X								
3307	24/70/130	532																X	X		
3313	50/76/130	516			X																
3315	22o.23/116/119	562										X									
3325	21/22o.23/119	548						X	X	X	X			X							
3326	22o.23/70/118	562	X				X	X	X	X	X	X									
3329	21/70/118	564					X							X				X			X
3332	22o.23/24/117	534				X									X			X		X	
3332	21/24/117	536				X									X			X		X	
3332	116/117/117	564				X												X		X	

Tabelle 5-5 (Fortsetzung)

RI	Triglycerid	M <sup>+</sup>	Probennummer																		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
3332	22o.23/22o.23/118	548	X					X	X												
3332	21/22o.23/118	550	X				X	X								X					X
3333	70/70/118	576										X									
3346	24/50/76	518				X								X							
3355	50/116/118	562	X	X		X	X									X					
3362	22o.23/70/118	562	X	X						X	X	X	X	X			X		X		X
3364	22o.23/70/119	560					X	X	X	X	X						X		X		X
3367	70/117/117	562										X	X	X			X		X		X
3370	21/70/119	562			X		X	X									X				
3372	22o.23/22o.23/119	546														X					
3372	21/22o.23/119	548														X					
3373	24/24/50	518	X	X	X		X	X											X	X	X
3373	22o.23/117/117	548			X	X	X									X					
3378	21/117/117	550												X		X					
3379	24/50/130	516	X		X				X	X	X	X							X		X
3382	50/130/130	514								X	X										
3390	50/70/118	560	X				X	X	X			X	X			X					
3392	50/116/119	560			X					X	X	X	X						X		
3392	50/70/119	558									X	X	X								
3393	22o.23/22o.23/119	546			X												X				
3393	22o.23/50/119	544								X	X					X					
3396	21/50/118	548						X	X												
3396	22o.23/70/119	560			X					X	X	X		X		X		X			X
3397	76/116/118	592				X	X	X													
3400	50/76/117	532			X	X							X			X		X			
3401	22o.23/22o.23/118	548											X								
3401	22o.23/50/118	546	X	X			X	X				X	X	X		X	X				X
3403	50/70/118	560	X	X				X	X			X	X	X			X				X
3404	21/50/119	546								X	X					X					
3428	76/116/119	590			X	X	X	X							X		X				
3440	24/70/118	590			X		X											X		X	
3440	50/70/119	558		X							X	X	X	X			X		X	X	X
3442	22o.23/50/119	544		X						X	X	X	X	X		X	X		X	X	X
3445	22o.23/76/118	n.d.			X	X	X	X						X		X					

Tabelle 5-5 (Fortsetzung)

RI	Triglycerid	M <sup>+</sup>	Probennummer																		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
3445	21/76/118	578			X	X	X	X										X			
3452	24/50/117	532			X																
3467	24/76/130	546						X													
3467	76/130/130	544						X													
3473	24/70/119	588		X			X					X	X	X	X		X	X	X	X	
3474	21/76/119	576		X			X					X	X	X	X		X	X	X	X	
3477	22o.23/76/119	574		X			X					X	X	X	X		X	X	X	X	
3483	50/50/119	542										X	X	X							
3489	24/117/117	576			X		X					X	X	X			X				
3507	50/50/119	542		X								X	X					X			
3510	21/24/118	n.d.			X		X								X		X			X	X
3513	22o.23/24/118	576	X	X			X							X						X	X
3515	70/118/130	588						X													X
3515	116/117/118	606				X		X										X			
3516	22o.23/118/130	574	X					X													
3537	22o.23/117/118	590					X														
3539	22o.23/119/130	572										X	X	X			X				
3544	21/24/119	576										X	X	X			X	X			
3544	70/119/130	586		X			X					X	X	X			X	X			
3545	22o.23/24/119	574	X				X					X	X	X			X	X	X	X	
3552	22o.23/117/118	590				X	X										X	X			
3553	21/117/118	592			X		X								X						
3561	22o.23/119/130	572		X									X					X	X		
3561	21/119/130	574		X									X	X				X			
3563	50/118/130	572																			
3565	22o.23/117/119	588													X						
3572	76/76/118	604	X																	X	X
3574	24/50/118	574	X	X			X														
3574	70/117/119	602			X								X	X	X		X	X	X	X	
3578	22o.23/117/119	588		X									X	X	X		X	X	X	X	
3578	21/117/119	590		X									X	X	X		X	X	X	X	
3588	117/117/117	590			X													X			
3596	76/76/119	602							X												
3604	24/76/118	604					X											X			



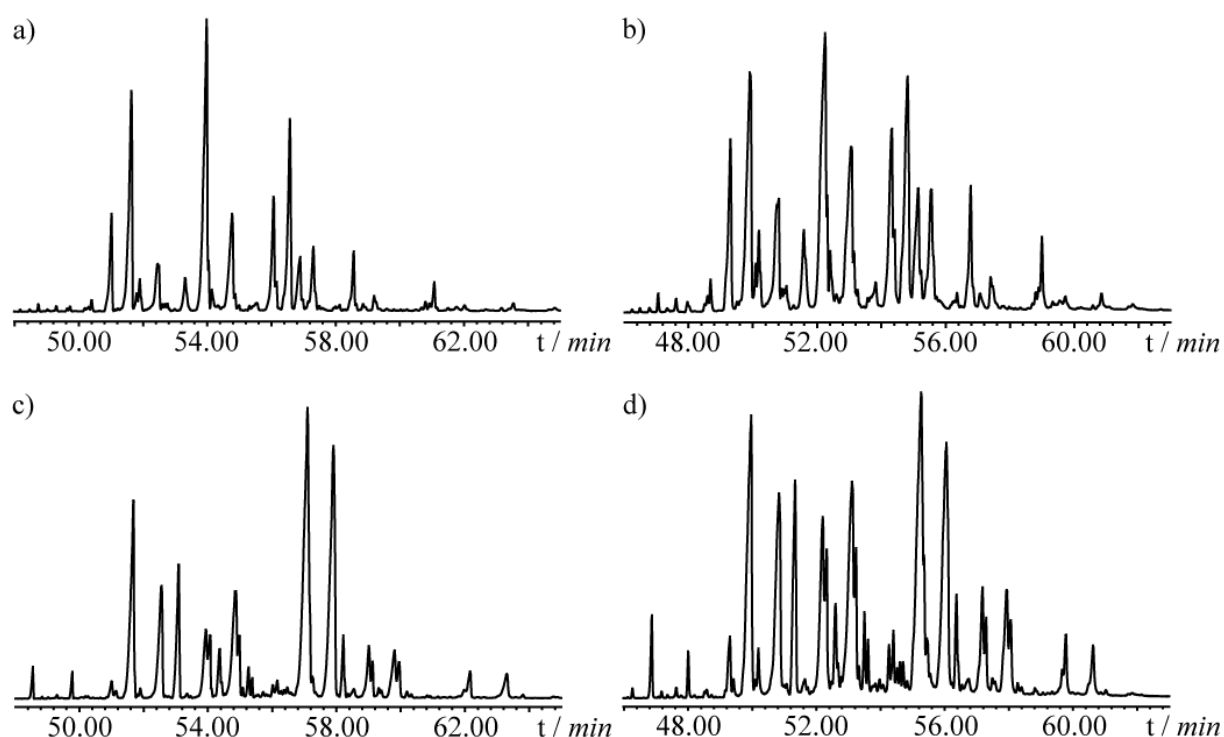
Tabelle 5-5 (Fortsetzung)

RI	Triglycerid	M <sup>+</sup>	Probennummer																		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
3608	24/50/119	572	X		X				X	X	X	X	X			X		X		X	
3610	50/117/118	588				X											X				
3620	76/117/118	618					X		X								X				
3625	50/119/130	570		X						X		X						X		X	
3629	22o.23/76/119	574		X						X		X					X	X		X	
3646	24/76/119	602		X						X		X						X		X	
3654	50/117/119	586		X								X						X		X	
3657	76/119/130	600		X						X		X				X			X		
3661	24/117/118	618					X														X
3672	24/24/118	604		X				X									X		X		
3677	24/117/119	616																			
3681	24/118/130	602						X									X				X
3708	22o.23/118/118	632	X					X													
3715	24/119/130	600								X		X									
3720	22o.23/118/118	632	X	X			X	X									X				X
3725	21/118/118	634						X							X						
3725	21/118/119	632		X																	
3727	22o.23/118/119	630										X					X				
3728	119/130/130	598								X		X									
3751	117/117/118	632														X					X
3751	22o.23/118/119	630	X	X				X				X									
3756	117/117/119	630																			
3759	50/118/118	630						X								X					
3773	76/118/119	n.d.						X								X					
3777	22o.23/119/119	628			X							X	X				X		X		
3783	50/118/118	630	X	X				X				X				X		X		X	X
3785	21/119/119	630			X				X		X	X					X		X		
3790	22o.23/119/119	628		X					X		X	X						X		X	
3794	50/118/119	628						X					X								
3805	76/118/118	n.d.						X									X				
3827	50/118/119	628			X				X				X						X		
3829	24/118/118	n.d.					X														
3840	50/119/119	626								X		X				X				X	
3856	50/119/119	626			X						X	X							X		X

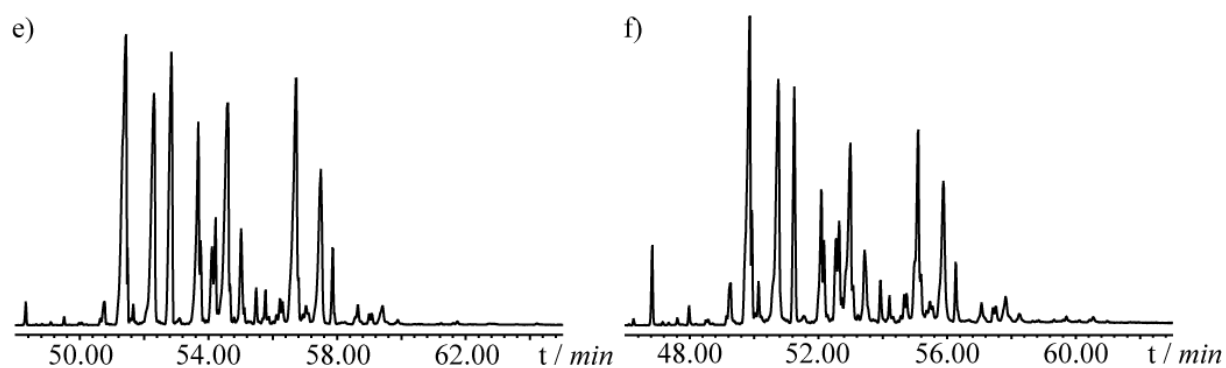
**Tabelle 5-5** (Fortsetzung)

RI	Triglycerid	M <sup>+</sup>	Probennummer																	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
3892	76/119/119	656									X	X			X			X		X
3901	117/118/118	n.d.															X			
3937	118/118/130	n.d.															X			
3939	24/119/119	656			X													X		
3984	119/119/130	654			X														X	

Die deutlichen Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung der einzelnen Sekretproben schlugen sich wie erwartet in sehr unterschiedlichen Triacylglyceridprofilen nieder. Ein geschlechtsspezifisches Auftreten bestimmter Verbindungen konnte wie bereits bei den Fettsäuren nicht beobachtet werden. Allerdings zeigte sich bei allen drei mehrfach untersuchten Individuen, dass Proben, die vom selben Tier im Abstand von zwei Jahren entnommen wurden, neben der gleichen Fettsäurezusammensetzung auch ein identisches Triacylglycerid-Muster aufwiesen. Dies betraf die Brückenechsen „Big Guy“ (Proben 1, 2, 8, 9 vom Mai 2002, Probe 19 vom Juli 2004), „Gans“ (Proben 3, 10, 11 vom Mai 2002, Probe 17 vom Juli 2004) sowie „Old Man“ (Probe 12 vom Mai 2002, Probe 18 vom Juli 2004). Ein Vergleich der zugehörigen Gaschromatogramme ergab, dass auch die relativen Anteile der einzelnen Komponenten sehr ähnlich waren (**Abb. 5-24**) (Unterschiede in den Retentionszeiten sind auf den zwischenzeitlich erfolgten Austausch der GC-Säule zurückzuführen). Daher liegt die Vermutung nahe, dass das Cloacaldrüsensekret eine Rolle in der chemischen Kommunikation bei *S. punctatus* spielt. Dies passt zu der Beobachtung, dass es zur Paarungszeit unter den Männchen zu Kommentkämpfen kommt; auch die Weibchen besitzen vermutlich eigene Reviere, sie gelten untereinander als unverträglich.<sup>[12]</sup>



**Abb. 5-24:** Vergleich der Gaschromatogramme von Sekretproben, die im Abstand von zwei Jahren jeweils von demselben Tier entnommen wurden. „Big Guy“: a) Probe 2 (Mai 2002); b) Probe 19 (Juli 2004); „Gans“: c) Probe 3 (Mai 2002); d) Probe 17 (Juli 2004).

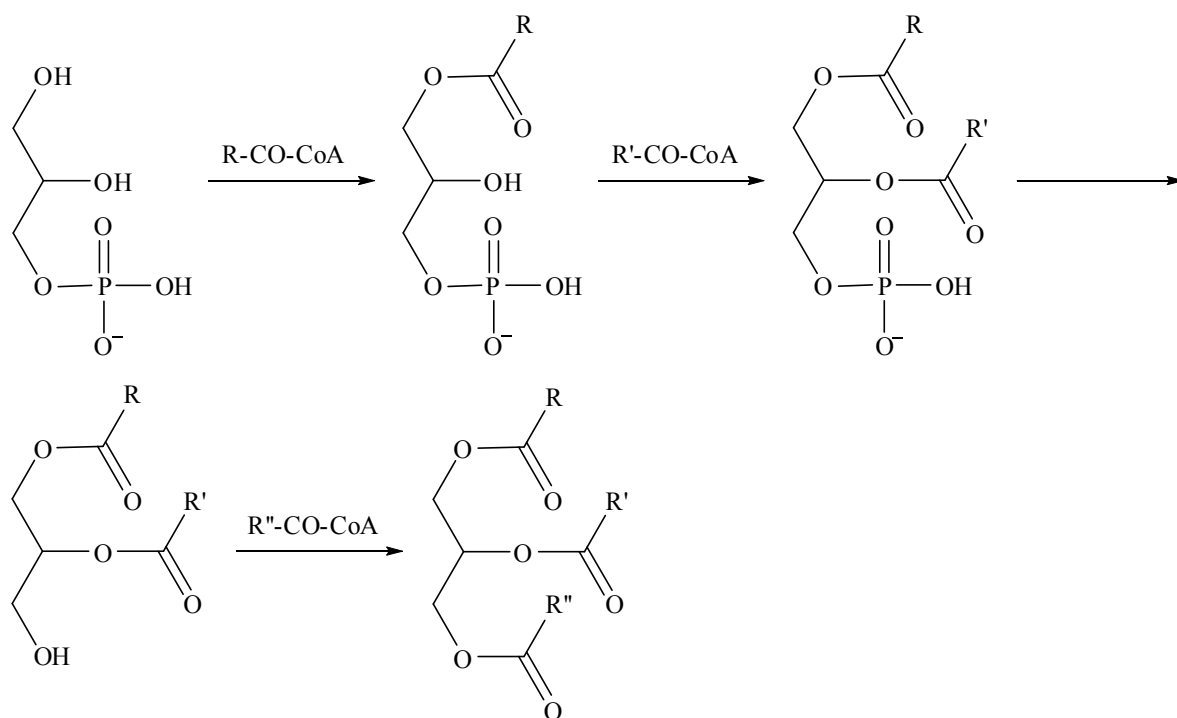


**Abb. 5-24** (Fortsetzung): Vergleich der Gaschromatogramme von Sekretproben, die im Abstand von zwei Jahren jeweils von demselben Tier entnommen wurden. „Old Man“: e) Probe 12 (Mai 2002); f) Probe 18 (Juli 2004).

Die Gaschromatogramme der übrigen dreizehn Naturproben sind in **Abb. 9-4 – Abb. 9-16** (im Anhang) dargestellt.

## 5.5 Biosynthetische Überlegungen

Die Biosynthese von Triacylglyceriden erfolgt in den meisten Fällen ausgehend von Glycerin-3-phosphat, das hauptsächlich aus der Glycolyse stammt (Kennedy-Biosyntheseweg) (**Abb. 5-25**). Dieses wird unter Enzymkatalyse zunächst an Position *sn*-1 und danach an *sn*-2 mit Fettsäureestern des Coenzym A acyliert. Anschließend wird die Phosphatgruppe an Position *sn*-3 enzymatisch abgespalten und das so gebildete Diacylglycerid erneut acyliert. Die Verteilung der Fettsäuren auf die Positionen am Glycerin ist je nach Organismus unterschiedlich, sie hängt von der Selektivität der an der Biosynthese beteiligten Enzyme bezüglich der jeweiligen Coenzym A-Fettsäureester sowie der teilweise acylierten Zwischenstufen ab.<sup>[114, 115]</sup>



**Abb. 5-25:** Biosynthese von Triacylglyceriden: Kennedy-Biosyntheseweg.

Alternativ könne Tiere Triacylglyceride auch durch Umesterung der mit der Nahrung aufgenommenen Fette herstellen. Dabei werden die Fettsäuren zunächst durch Lipasen vom Glycerin hydrolytisch abgespalten, je nach Enzym kann meist eine Selektivität bezüglich der angegriffenen Positionen beobachtet werden. Da die anschließende Acylierung der freien Hydroxygruppen ebenfalls enzymkatalysiert abläuft, können auch hier einzelne Fettsäuren selektiv an bestimmten Positionen eingebaut werden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit war es leider nicht möglich, die Position der Fettsäuren innerhalb der Triacylglyceridmoleküle aufzuklären. Daher kann an dieser Stelle nichts über die Selektivität der bei *Sphenodon punctatus* an der Triacylglycerid-Biosynthese beteiligten Enzyme ausgesagt werden.

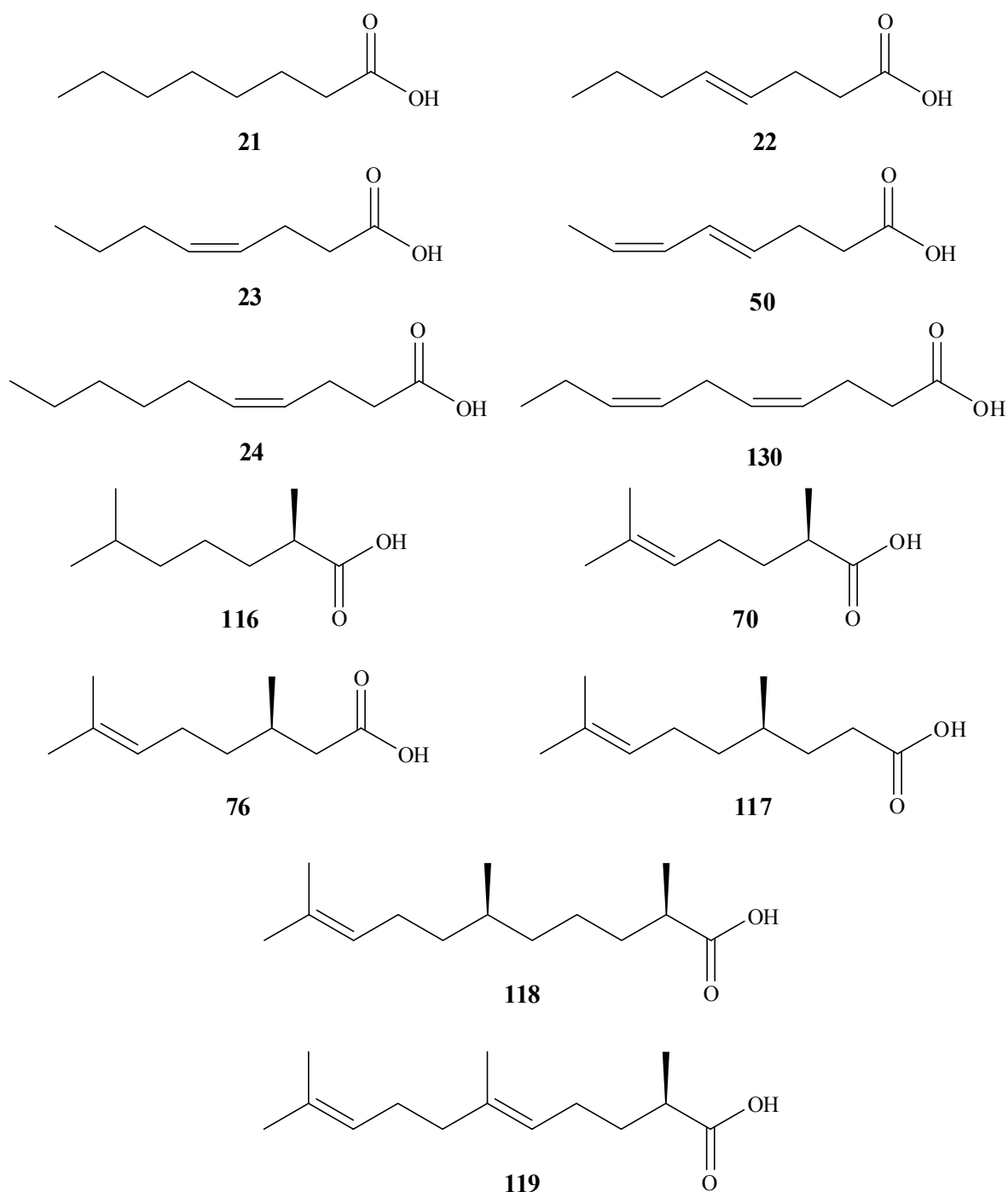
## 6 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die bereits früher durchgeführten Untersuchungen zur Zusammensetzung des Cloacaldrüsensekrets der Brückenechse (*Sphenodon punctatus*) ergänzt und vervollständigt.<sup>[25, 26]</sup>

Zunächst erfolgte die abschließende Identifizierung der in den Triacylglyceriden des Sekrets enthaltenen Fettsäuren. Es gelang, (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäure (**50**) und (4*Z*,7*Z*)-4,7-Decadiensäure (**130**) zu synthetisieren und mit Hilfe gaschromatographischer Koinjektionen als die beiden gesuchten natürlichen Fettsäuren zu identifizieren. Die Konfiguration der Doppelbindungen wurde in beiden Fällen anhand der NMR-Daten sowie der Gasphasen-IR-Spektren der Verbindungen überprüft. Die Doppelbindungskonfiguration der bereits zuvor nachgewiesenen (*E*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (**61**) konnte ebenfalls auf Grundlage ihrer NMR-Daten, unter Zuhilfenahme von Literaturspektren der strukturverwandten Verbindungen (*E*)- und (*Z*)- $\beta$ -Farnesen (**62** und **64**), geklärt werden.

Des Weiteren war es möglich, die Stereochemie aller methylverzweigten Säuren zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**), (*R*)-2,6-Dimethylheptensäuremethylester (**74**), (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (**78**), (*S*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (**82**), (2*S*,6*RS*)-, (2*R*,6*RS*)- und (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**111**, **112**, **113**) sowie (*S*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**97**) synthetisiert. Die Durchführung gaschromatographischer Koinjektionen der synthetischen Verbindungen mit den entsprechenden natürlichen Fettsäuren bzw. ihren Methylestern an chiralen stationären Phasen erlaubte die Bestimmung der Konfigurationen aller stereogenen Zentren. Es zeigte sich, dass fast alle Methylverzweigungen eine (*R*)-Konfiguration aufwiesen; eine Ausnahme stellte lediglich diejenige am C-6 der 2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**118**) dar, die (*S*)-konfiguriert vorlag.

Die Derivatisierung einiger zuvor mit Natriummethanolat umgeesterter Naturproben mit Dimethyldisulfid (DMDS) in Gegenwart von Iod führte bei allen ungesättigten Fettsäuren zu charakteristischen Additionsprodukten; die Massenspektren der Derivatisierungsprodukte bestätigten die Vorschläge zur Position der Doppelbindungen. Einen Überblick über die zwölf Fettsäuren, die in größeren Mengen im Cloacaldrüsensekret der Brückenechse nachgewiesen wurden, gibt **Abb. 6-1**.



**Abb. 6-1:** Strukturen der zwölf Fettsäuren, die in größeren Mengen im Cloacaldrüsensekret der Brückenechse nachgewiesen wurden.

Die Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung der einzelnen Naturproben zeigte, dass neben den zwölf in größeren Mengen auftretenden Säuren noch einige andere in geringeren Konzentrationen beobachtet werden konnten. Ein Zusammenhang zwischen dem Geschlecht der untersuchten Tiere und dem jeweiligen Fettsäureprofil bestand nicht, auch der Aufenthaltsort der Individuen schien keine Rolle zu spielen. Interessanterweise ist die



Fettsäurezusammensetzung des Cloacaldrüsensekrets jedoch eine charakteristische Eigenschaft einer jeden Brückenechse: Sekretproben, die im Abstand von zwei Jahren von einem bestimmten Tier entnommen wurden, zeigten ein annähernd identisches Fettsäureprofil. Die Entstehung aller in den Naturproben nachgewiesenen Fettsäuren konnte mit bekannten Biosynthesewegen erklärt werden. Zehn der zwölf als Hauptkomponenten in den Naturproben nachgewiesenen Fettsäuren waren bereits aus der Natur bekannt; lediglich (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäure (**50**) und (*R*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (**117**) wurden bislang nicht beobachtet. Bei **117** handelt es sich um eine Verbindung mit einem teilweise abgebauten Sesquiterpen-Gerüst, während **50** eine unverzweigte, zweifach ungesättigte Struktur mit einem ungewöhnlichen konjugierten Doppelbindungssystem aufweist.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden die im Cloacaldrüsensekret enthaltenen Triacylglyceride genauer betrachtet. Es wurde eine Methode zur Synthese von Triacylglyceriden mit definierter Fettsäurezusammensetzung entwickelt und zur Darstellung von drei Modellverbindungen eingesetzt, deren chromatographische und massenspektrometrische Eigenschaften im Folgenden untersucht wurden. Daneben erfolgte die Synthese zweier Triacylglycerid-Gemische mit statistischer Fettsäureverteilung zur Entwicklung geeigneter chromatographischer Trennverfahren.

Aus vorhergehenden Arbeiten war bereits bekannt, dass Triacylglyceride mit ähnlicher Fettsäurezusammensetzung bei der Gaschromatographie zu Koelutionen neigen.<sup>[25, 26]</sup> Anhand der drei zuvor synthetisierten Modellverbindungen wurde nun gezeigt, dass eine gaschromatographische Trennung von Triacylglycerid-Isomeren, die sich nur hinsichtlich der Position der enthaltenen Fettsäuren innerhalb des Moleküls unterscheiden, ebenfalls nicht möglich ist.

Des Weiteren wurde das Verhalten der beiden Triacylglycerid-Gemische aus der statistischen Synthese bei der Reversed-Phase-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) untersucht. An einer Octadecylsilyl-Phase konnte mit mobilen Phasen aus Acetonitril mit verschiedenen Anteilen an Isopropanol oder Methyl*tert*butylether keine erfolgreiche Trennung der einzelnen Verbindungen erzielt werden.

Als dritte Möglichkeit zur chromatographischen Trennung der Triacylglyceride wurde die Silberionenchromatographie eingesetzt. Dabei sollte eine Auftrennung nach dem Grad der Unsattheit der einzelnen Moleküle erreicht werden.<sup>[91]</sup> Eine silberionen-chromatographische HPLC-Trennung nach der Methode von CHRISTIE<sup>[96]</sup> war nicht erfolgreich, daher wurde eine Strategie zur Normaldrucksäulenchromatographie an silbernitratimprägniertem Kieselgel im Mikromaßstab entwickelt. Diese ermöglichte eine Trennung der Triacylglycerid-Gemische

aus der statistischen Synthese, in den einzelnen Fraktionen waren jeweils die Verbindungen mit einer bestimmten Doppelbindungsanzahl stark angereichert.

Dies ermöglichte eine anschließende weitergehende Untersuchung der Triacylglyceride mittels Gaschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie. Die Elektronenstoß-Ionisations-Massenspektren (EI-MS) der Verbindungen zeigten das bereits in der Literatur beschriebene Aussehen: der  $[M]^+$ -Peak war sehr klein oder fehlte ganz, daneben konnten Fragmente, die durch Abspaltung von ein oder zwei Acyloxygruppen zustande kamen, sowie die entsprechenden  $[RCO]^+$ -Ionen beobachtet werden.<sup>[99]</sup> Eine Zuordnung der Position der einzelnen Fettsäuren innerhalb des Moleküls konnte anhand der Spektren nicht getroffen werden.

Um sicherere Informationen über die Molekülmassen der einzelnen Verbindungen zu erhalten, wurden mildere Ionisierungsmethoden wie die Chemische Ionisation (CI-MS) eingesetzt. Bei Verwendung von Ammoniak als Reaktandgas konnten  $[M + NH_4]^+$ -Ionen mit relativ hohen Intensitäten beobachtet werden, daneben traten die gleichen Fragmente wie bei der Elektronenstoß-Ionisation auf, aber mit deutlich geringerer Intensität. Mit Isobutan als Reaktandgas entstanden  $[M+H]^+$ -Ionen, die jedoch nicht besonders stabil waren und sofort nach dem bereits bekannten Muster weiter zerfielen.

Als eine weitere milde Ionisierungsmethode wurde die Elektrospray-Ionisation (ESI) untersucht. Die ESI-Massenspektren der drei Modellverbindungen zeigten  $[M + Na]^+$ -Ionen mit sehr hohen Intensitäten. Zusätzliche Informationen über die Struktur der Moleküle wurden aus der Skimmerfragmentierung sowie aus MS/MS-Experimenten erhalten. Es entstanden  $[DAG - H + Na]^+$ - sowie etwas weniger intensive  $[DAG]^+$ - und  $[MAG]^+$ -Ionen, bei der Skimmerfragmentierung zudem noch  $[RCO]^+$ -Ionen. Die Positions-isomere unterschieden sich hinsichtlich der relativen Intensitäten der drei  $[DAG - H + Na]^+$ - Fragmente; dies traf auch für die  $[DAG]^+$ -Ionen aus der Skimmerfragmentierung zu, nicht jedoch für jene aus den MS/MS-Experimenten. Die relativen Intensitäten der  $[MAG]^+$ -Fragmente waren sowohl bei der MS/MS- als auch bei der MS/MS/MS-Untersuchung für alle Isomere ähnlich.

Mit zwei der Modellverbindungen wurde zudem ESI-MS unter Zugabe von Ammoniumformiat durchgeführt; dies führte neben den bereits bekannten Natriumaddukten zur Bildung von  $[M + NH_4]^+$ -Ionen. Die relativen Intensitäten der  $[DAG]^+$ - und  $[MAG]^+$ - Fragmente aus der anschließenden Skimmerfragmentierung wie auch aus dem MS/MS ermöglichten keine Unterscheidung der Positions-isomere; dies galt auch für die

MS/MS/MS-Untersuchung. Generell konnte beobachtet werden, dass die Ammoniumaddukte weniger stabil waren als die Natriumaddukte.

ESI-MS einer Modellverbindung unter Zugabe von Ameisensäure zeigte, dass die erwarteten  $[M + H]^+$ -Ionen instabil waren und sehr rasch zerfielen; diese Methode war daher für die Analyse der Naturproben nicht geeignet.

Die Kopplung von ESI-MS mit der HPLC ist ein gängiges Verfahren zur Untersuchung von Triacylglycerid-Gemischen, so dass die Entwicklung einer geeigneten Methode zur HPLC-Trennung der Naturproben einen vielversprechenden Ansatz für zukünftige Untersuchungen darstellt.<sup>[103, 104]</sup>

Des Weiteren wurde eine regio- und stereospezifische Analyse der Triacylglyceride mit Hilfe von Spaltungs- und Derivatisierungsreaktionen angestrebt. Da bei enzymkatalysierten Spaltungen eine Verlangsamung der Reaktion bei sterischer Hinderung durch funktionelle Gruppen wie Methylverzweigungen oder Doppelbindungen in der Nähe der Esterbindung auftritt, waren diese für die Naturproben nicht geeignet. Stattdessen wurde ein chemischer Abbau mit Ethylmagnesiumbromid durchgeführt; die Reaktionsprodukte wurden (nach Derivatisierung mit *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoracetamid (MSTFA)) mittels GC/EI-MS untersucht.<sup>[107, 109]</sup> Dabei zeigte sich, dass die Geschwindigkeit der Abspaltung von der Struktur der Fettsäuren abhing: Methylverzweigungen hemmten die Reaktion; dieser Effekt war umso stärker, je geringer der Abstand der Verzweigung zur Esterfunktion war. Eine stereospezifische Analyse der im Cloacaldrüsensekret enthaltenen Triacylglyceride mit Hilfe von Spaltungsreaktionen wurde deshalb nicht durchgeführt.

Die anhand der Modellverbindungen und -gemische gewonnenen Kenntnisse bezüglich der chromatographischen und massenspektrometrischen Eigenschaften der Triacylglyceride ermöglichten die abschließende Bestimmung der Triacylglycerid-Zusammensetzung aller Cloacaldrüsensekretproben. Dabei wurden zunächst die in ausreichender Konzentration und Menge vorliegenden Naturproben mit Hilfe der Silberionenchromatographie im Mikromaßstab aufgetrennt und die Inhaltsstoffe der erhaltenen Fraktionen mit GC/CI-MS und GC/EI-MS aufgeklärt. Ein Vergleich der Ergebnisse mit den GC/EI-MS-Daten der entsprechenden unbehandelten Proben zeigte, dass bei der Silberionentrennung einige Verbindungen, bevorzugt solche mit geringem Unsättigungsgrad, verloren gegangen waren, so dass die Liste der in den Proben enthaltenen Triacylglyceride entsprechend ergänzt werden musste. Die Zusammensetzung der übrigen Sekretproben konnte auf der Grundlage der GC/EI-MS-Daten der jeweiligen unbehandelten Proben durch Vergleich mit der Liste bereits identifizierter Triacylglyceride aufgeklärt

werden. Die Ergebnisse wurden dann anhand der bereits bekannten Fettsäurezusammensetzung der Naturproben verifiziert.

Die Cloacaldrüsensekrete enthielten z. T. mehr als hundert Triacylglyceride, wodurch es in der Gaschromatographie wiederholt zu Koelutionen kam. Daher wurde eine qualitative Analyse der Triacylglycerid-Zusammensetzung des Cloacaldrüsensekrets der Brückenechse durchgeführt; auf die Aufklärung der Position der einzelnen Fettsäuren innerhalb der Triacylglycerid-Moleküle wurde verzichtet.

Wie bereits für die Fettsäurezusammensetzung des Cloacaldrüsensekrets konnte auch für die Triacylglycerid-Zusammensetzung kein Zusammenhang mit dem Geschlecht der untersuchten Tiere oder mit ihrem Aufenthaltsort hergestellt werden. Auch das Triacylglycerid-Profil des Sekrets ist offensichtlich charakteristisch für jede einzelne Brückenechse: Proben, die mit zweijährigem Abstand von bestimmten Individuen entnommen wurden, wiesen jeweils eine annähernd konstante Triacylglycerid-Zusammensetzung auf.

## 7 Experimenteller Teil

### 7.1 Allgemeines

#### Chemikalien

Die eingesetzten Chemikalien wurden von den Firmen Acros, Aldrich, Alfa Aesar, Fluka, Merck, Lancaster und Strem geliefert. Sie wurden, soweit nicht anders angegeben, ohne Reinigung verwendet. Die Lösungsmittel wurden destilliert. Die Durchführung von Reaktionen in Abwesenheit von Wasser erfolgte unter trockener Stickstoffatmosphäre. Die hierfür benötigten Apparaturen wurden ausgeheizt, die Lösungsmittel nach Standardmethoden getrocknet.

#### Dünnschichtchromatographie

Dünnschichtchromatographische Analysen wurden auf kieselgelbeschichteten Folien der Firma Macherey-Nagel Polygram® SIL G/UV<sub>254</sub> durchgeführt. Die Chromatogramme wurden unter UV-Licht der Wellenlänge 254 nm oder durch Eintauchen der Folie in eine 10 %ige Lösung von Molybdätdi-phosphorsäure in Ethanol und anschließendes Erhitzen sichtbar gemacht.

#### Säulenchromatographie

Säulenchromatographische Auftrennungen von Substanzgemischen erfolgten an Kieselgel der Firma Merck mit der Bezeichnung Kieselgel 60. Dabei wurde stets unter leichtem Überdruck gearbeitet. Die Laufmittelzusammensetzung wurde so gewählt, dass die gewünschte Substanz einen  $R_f$ -Wert von  $R_f = 0.2 - 0.4$  besaß.

#### Chirale GC

Gaschromatographischen Trennungen von Enantiomeren wurden an Geräten des Typs GCTop 8000 der Firma ThermoQuest mit Flammenionisationsdetektor durchgeführt, als Trägergas wurde Wasserstoff mit einem Volumenstrom von 1 mL pro Minute verwendet. Es wurden stationäre chirale Phasen mit folgender Belegung eingesetzt: Hydrodex-6-TBDMS (2,3-Di-*O*-methyl-6-*O*-TBDMS- $\beta$ -cyclodextrin, 35 m  $\times$  0.25 mm i.D., 0.25  $\mu$ m Filmdicke; *Macherey-Nagel*), 2,6-Di-*O*-methyl-3-*O*-decanoyl- $\beta$ -cyclodextrin (15 m  $\times$  0.32 mm i.D., 0.25  $\mu$ m Filmdicke; *König*) and Lipodex G (2,3-Di-*O*-pentyl-6-*O*-methyl- $\gamma$ -cyclodextrin, 50m  $\times$  0.25mm i.D.; *Macherey-Nagel*).

### **GC/EI-MS**

Zur Analyse von Substanzen und Substanzgemischen sowie zur Aufnahme von Massenspektren wurde die Kopplung von Gaschromatographie und Massenspektrometrie (GC/MS) genutzt. Dabei wurden ein Gaschromatograph des Typs HP 6890 Series GC und ein Massenspektrometer des Typs HP 5973 Mass Selective Detector eingesetzt (Hewlett-Packard). Die gaschromatographische Trennung erfolgte an einer Fused-Silica-Kapillarsäule mit einer Länge von 25 m und einem Innendurchmesser von 0.22 mm, belegt mit einer BPX-5-Phase (SGE). Als Trägergas wurde Helium mit einem Volumenstrom von 1 mL pro Minute verwendet. Die Beschleunigungsspannung des Massenspektrometers betrug 70 eV.

Retentionsindices  $I$  wurden anhand einer homologen Serie von  $n$ -Alkanen ( $C_8$ – $C_{38}$ ) bestimmt.

### **GC/CI-MS**

Zur Bestimmung der Massen der Triacylglyceride wurde die Kopplung von Gaschromatographie und CI-Massenspektrometrie eingesetzt. Dabei wurden ein Gaschromatograph des Typs HP 5890A Series GC der Firma Hewlett-Packard und ein Massenspektrometer des Typs TSQ 700 der Firma Finnigan verwendet. Die gaschromatographische Trennung erfolgte an einer Fused-Silica-Kapillarsäule mit einer Länge von 30 m und einem Innendurchmesser von 0.32 mm, belegt mit einer ZB-1-Phase (Phenomenex). Als Trägergas wurde Helium mit einem Volumenstrom von 1.6 mL pro Minute verwendet. Die Massenspektren wurden im positiven Modus mit Ammoniak bzw. Isobutan als Reaktandgas aufgenommen.

### **ESI-MS**

Zur Untersuchung der genauen Struktur der Triacylglyceride wurden ESI-Massenspektren aufgenommen. Dabei wurde ein Sektorfeld-Massenspektrometer des Typs MAT95XLT mit einer modifizierten microESI-Ionenquelle, gekoppelt mit einer Quadrupol-Ionenfalle, der Firma Thermofinnigan verwendet. Folgende Einstellungen wurden gewählt: Auflösung: 3000 (10 % valley definition), Scan: 50 – 1200 amu (2 sec / decade), Durchflussrate: etwa 1  $\mu$ l / min, Sprayspannung: 1.3 – 1.8 kV.

### **GC/IR**

Zur Untersuchung der Doppelbindungsgeometrie einzelner Verbindungen sowie für einige Koelutions-Experimente wurde die Kopplung von Gaschromatographie und Infrarot-

spektrometrie (GC/IR) eingesetzt. Dabei wurden ein Gaschromatograph des Typs HP 6890 Series GC und ein Infrarotdetektor des Typs HP 5965B infrared detector der Firma Hewlett-Packard verwendet. Die gaschromatographische Trennung erfolgte an einer Fused-Silica-Kapillarsäule mit einer Länge von 30 m und einem Innendurchmesser von 0.32 mm, belegt mit einer HP-5-Phase. Als Trägergas wurde Helium mit einem Volumenstrom von 2 mL pro Minute verwendet.

## HPLC

Die HPLC-Trennungen wurden an einem Spectra System von Thermoquest, bestehend aus einer Pumpe P4000, einem Autosampler AS3000 und einem Dioden-Array-Detektor UV6000LP, durchgeführt. Für die Reversed Phase-Chromatographie wurde eine HPLC-Säule mit einer Superspher 100 RP-18 endcapped-Phase ( $250 \times 2$  mm, 4  $\mu$ m Partikelgröße, *Merck*) mit einer Vorsäule (ebenfalls Superspher 100 RP-18 endcapped,  $10 \times 2$  mm, 4  $\mu$ m Partikelgröße, *Merck*) verwendet. Als Laufmittel wurden Gemische von Acetonitril mit unterschiedlichen Anteilen an Isopropanol oder MTBE eingesetzt. Die Flussrate betrug 1 mL pro Minute. Für die Silberionen-Chromatographie wurde eine HPLC-Säule mit einer Nucleosil 5SA Phase ( $250 \times 4.6$  mm, *Macherey-Nagel*) verwendet, die zuvor nach der Methode von CHRISTIE<sup>[96]</sup> mit Silbernitratlösung behandelt wurde. Als Laufmittel wurde Acetonitril (0.5 – 1.0 Vol.%) in Hexan eingesetzt. Die Flussrate betrug 1 mL pro Minute. Die Detektion erfolgte in beiden Fällen im Wellenlängenbereich von 200 – 230 nm.

## NMR

Zur Aufnahme von NMR-Spektren wurden Geräte des Typs AC-200 bzw. DPX-200 (200 MHz für  $^1\text{H}$ , 50 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) sowie DRX-400 (400 MHz für  $^1\text{H}$ , 100 MHz für  $^{13}\text{C}$ ) der Firma Bruker eingesetzt. DEPT-Messungen erfolgten bei einem Pulswinkel von  $135^\circ$ . Als interner Standard diente Tetramethylsilan ( $\delta = 0.00$  ppm).

## Optische Aktivität

Der Drehwert optisch aktiver Substanzen wurde auf einem Dr. Kernchen Propol Digital Automatic Polarimeter der Firma Dr. Kernchen in einer 1 mL Küvette bestimmt.

## Ozonolysen

Die Ozonolysen wurden mit einem Ozon-Generator der Firma DEMAG durchgeführt, der mit reinem, vorgetrocknetem Sauerstoff betrieben wurde.

## 7.2 Derivatisierung von Naturproben

### 7.2.1 Darstellung der Fettsäuremethylester<sup>[116]</sup>

In einem Analysenfläschchen werden 5  $\mu\text{L}$  der Naturprobe mit 50  $\mu\text{L}$  abs. Dichlormethan versetzt. Es werden 100  $\mu\text{L}$  einer 0.5 M Lösung von Natriummethanolat in Methanol (zuvor hergestellt durch Auflösen von 60 mg Natrium in 5 mL Methanol) zugegeben und das Gemisch wird mit geschlossenem Deckel für 30 Minuten auf 50°C erhitzt. Nach dem Abkühlen werden 10  $\mu\text{L}$  Eisessig zugefügt und es wird geschüttelt. Dann wird mit 250  $\mu\text{L}$  Wasser verdünnt und zweimal mit je 350  $\mu\text{L}$  Pentan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und durch offenes Stehenlassen auf ein Volumen von etwa 50  $\mu\text{L}$  eingengt.

### 7.2.2 Verseifung der Triglyceride

In einem Analysenfläschchen werden 20  $\mu\text{L}$  der Naturprobe vorgelegt und das Lösungsmittel wird abgedampft. Dann werden 200  $\mu\text{L}$  einer 1 M Natronlauge zugegeben und der Ansatz wird mit geschlossenem Deckel über Nacht auf 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch mit 200  $\mu\text{L}$  Wasser verdünnt und mit 350  $\mu\text{L}$  Dichlormethan extrahiert, um Eduktreste und Nebenprodukte zu entfernen. Dann wird die wässrige Phase mit konzentrierter Salzsäure angesäuert und zweimal mit je 350  $\mu\text{L}$  Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und auf ein Volumen von etwa 50  $\mu\text{L}$  eingengt.

### 7.2.3 Silylierung von Alkoholen und Säuren

In einem Analysenfläschchen werden 20  $\mu\text{L}$  der Naturprobe vorgelegt und mit 50  $\mu\text{L}$  *N*-Methyl-*N*-trimethylsilylfluoracetamid (MSTFA) versetzt. Der Ansatz wird mit geschlossenem Deckel für 30 – 60 Minuten auf 50°C erhitzt. Anschließend werden das Lösungsmittel und überschüssiges Reagenz im Stickstoffstrom bei 50°C entfernt und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen.



#### 7.2.4 DMDS-Derivatisierung<sup>[116]</sup>

In einem 2 mL-Analysenfläschchen werden 20 µL einer nach 7.2.1 hergestellten Lösung von Fettsäuremethylestern bzw. einer Lösung einer synthetisierten Verbindung vorgelegt. Das Lösungsmittel wird durch offenes Stehenlassen abgedampft. Dann werden 170 µL Dimethyldisulfid und 35 µL einer Iodlösung (60 mg/ml in Diethylether) zugegeben und der Ansatz wird mit geschlossenem Deckel 24 Stunden gerührt. Das Gemisch wird mit 300 µL Pentan verdünnt und bis zur Entfärbung mit Natriumthiosulfatlösung versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase mit 300 µL Pentan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wird im Stickstoffstrom entfernt und der Rückstand in Pentan aufgenommen.

## 7.3 Allgemeine Arbeitsvorschriften

### 7.3.1 Monodecarboxylierung<sup>[29]</sup>

Zur Monodecarboxylierung wird der entsprechende Diester (1.0 eq) mit Lithiumchlorid (3.0 eq), Wasser (1.0 eq) und Dimethylsulfoxid (1.86 mL / mmol Diester) versetzt und 5 Stunden unter Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch wird mit gesättigter Ammoniumchloridlösung versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

### 7.3.2 Veresterung mit Diazomethan<sup>[30]</sup>

Zur Herstellung einer etherischen Diazomethanlösung wird in einer aus einem Schraubdeckelgläschen und einem Teflonschlauch konstruierten Mikrodestillationsapparatur eine 0.41 M Lösung von *N*-Methyl-*N*-nitroso-*p*-toluolsulfonsäureamid (1.0 eq) in einer Mischung aus Diethylether und Diethylenglykolmonoethylether im Volumenverhältnis 1:1 vorgelegt. Dazu wird rasch eine 0.37 M Lösung von Kaliumhydroxid (1.1 eq) in einer Mischung aus Methanol und Wasser im Volumenverhältnis 1:1 gegeben. Es tritt sofort eine Gasentwicklung ein, und das gebildete Diazomethan wird über einen kurzen Teflonschlauch mit einem dazwischen liegenden gasdichten Schraubdeckelgläschen als Waschflasche bei -20 °C in Diethylether geleitet.

Anschließend wird eine 1.30 M Lösung der entsprechenden Carbonsäure in Diethylether bei Raumtemperatur unter Schwenken mit so viel Diazomethanlösung versetzt, bis eine schwache Gelbfärbung bestehen bleibt bzw. bis weitere Zugabe von Diazomethan keine Stickstoffentwicklung mehr zur Folge hat. Das Reaktionsgemisch wird mit 1 M Natronlauge und Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert.

### 7.3.3 Synthese von Oct-6-en-4-insäuremethylestern

Eine 4.5 M Suspension von wasserfreiem Palladium(II)chlorid in Benzonitril wird auf 100°C erwärmt. Nach 20minütigem Rühren hat sich ein Großteil des Palladium(II)chlorid gelöst. Die entstandene rote Lösung wird warm vom Feststoff abgetrennt und in Pentan

gegeben. Dabei fällt Palladium(II)chlorid-benzonitril als gelber Feststoff aus, der abfiltriert, mehrmals mit Pentan gewaschen und an der Luft getrocknet wird.<sup>[31]</sup>

Unter Stickstoff wird zu einer Suspension des entsprechenden Bromids (1.0 eq), Palladium(II)chlorid-benzonitril (0.05 eq) und Kupfer(I)iodid (0.1 eq) in Piperidin (3 mL pro mmol Bromid) 4-Pentinsäuremethylester (2.0 eq) (Herstellung analog Vorschrift 7.3.2) gegeben. Das Reaktionsgemisch wird 3.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung versetzt. Die wässrige Phase wird mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 0.2 M Salzsäure, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zweimal mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.<sup>[32]</sup>

#### 7.3.4 Hydrierung mit P-2 Nickel<sup>[33, 34]</sup>

Zur Herstellung einer stabilisierten Lösung für die Reduktion des Katalysators wird Natriumborhydrid in einer Mischung aus abs. Ethanol und 2 M Natriumhydroxidlösung im Volumenverhältnis 19:1 (25 mL pro Gramm Natriumborhydrid) gelöst und die entstandene Lösung anschließend filtriert.

Es wird eine 0.11 M Lösung von Nickel(II)acetat-Tetrahydrat in abs. Ethanol (1.0 eq) vorgelegt. Die Apparatur wird mit Stickstoff geflutet. Unter starkem Rühren wird die zuvor hergestellte 1 M Lösung von Natriumborhydrid in Ethanol (1.0 eq) über einen Zeitraum von 15 Sekunden zugegeben. Wenn die Gasentwicklung beendet ist, kann der Katalysator verwendet werden. Die Apparatur wird mit Wasserstoff geflutet, dann wird Ethylendiamin (2.0 eq) zugegeben. Die Reaktion wird durch Zugabe der zu hydrierenden Verbindung (8.0 eq bezogen auf die Anzahl der Dreifachbindungen) gestartet. Nach Beendigung der Reaktion (Kontrolle durch Dünnschichtchromatographie) wird das Gemisch durch eine dünne Schicht Aktivkohle (3 mm) filtriert, mit Wasser verdünnt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert.

#### 7.3.5 Oxidation mit Silberoxid<sup>[49, 50]</sup>

Zu Silbernitrat (1.0 eq), gelöst in wenig Wasser, wird 1 M Natronlauge (1.0 eq) zugegeben und es wird 5 Minuten gerührt. Anschließend wird das ausgefallene Silberoxid dreimal mit Wasser gewaschen (dekantieren), um Nitratreste zu entfernen. Nun wird erneut

1 M Natronlauge (1.7 eq) zugegeben. Dann wird der entsprechende Aldehyd (0.7 eq) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird auf 60 °C erwärmt und bei dieser Temperatur 3 Stunden gerührt. Nach dem Abkühlen wird das Gemisch filtriert und mit Natronlauge und Wasser nachgespült. Die wässrige Phase wird zweimal mit Diethylether extrahiert, anschließend mit konzentrierter Salzsäure angesäuert und danach noch jeweils zweimal mit Dichlormethan und Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

### **7.3.6 Hydrierung mit Palladium / Aktivkohle**

Es werden Pentan und eine Spatelspitze Palladium auf Aktivkohle vorgelegt und kurz gerührt, um eine homogene Suspension zu erhalten. Danach wird die zu hydrierende Verbindung zugegeben, und der Ansatz wird für 3 Stunden im Autoklaven unter Wasserstoffatmosphäre gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch durch eine mit Watte gefüllte Pasteurpipette filtriert und das Lösungsmittel entfernt.

### **7.3.7 Verseifung von Methylestern mit Natronlauge<sup>[55]</sup>**

Der entsprechende Carbonsäuremethylester wird mit 1 M Natronlauge (10 mL Lauge pro Gramm Methylester) versetzt. Das Gemisch wird unter Rückfluss gekocht, der Reaktionsfortschritt wird mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Nach Beendigung der Reaktion wird das gebildete Methanol abdestilliert. Der Rückstand wird mit konzentrierter Salzsäure angesäuert und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

### **7.3.8 Bromierung mit Triphenylphosphin und Brom<sup>[56]</sup>**

Zu einer 1.15 M Lösung von Triphenylphosphin in abs. Dichlormethan (2.0 eq) wird bei 0 °C Brom (2.0 eq) so zugetropft, dass nach beendeter Zugabe eine nur leichte Gelbfärbung bestehen bleibt. Das Reaktionsgemisch wird 20 Minuten gerührt, dann wird der entsprechende Alkohol (1.0 eq), gelöst in Pyridin (0.15 mL / mmol) und abs. Dichlormethan

(0.25 mL / mmol), zugegeben. Anschließend wird 2 Stunden gerührt, wobei sich das Gemisch auf Raumtemperatur erwärmen darf.

Das Reaktionsgemisch wird filtriert und mit Pentan versetzt, dabei fällt Triphenylphosphinoxid als weißer flockiger Feststoff aus. Das Gemisch wird mehrmals am Rotationsverdampfer eingeeengt und mit Pentan wieder aufgenommen. Zur Entfernung des Feststoffs wird das Reaktionsgemisch in pastartiger Konsistenz auf eine Kieselgelsäule aufgetragen und als Laufmittel ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

### 7.3.9 Enantioselektive Methylierung

#### 7.3.9.1 Einführung des chiralen Auxiliars<sup>[59]</sup>

Zu einer Lösung der Säure (1.0 eq) und Triethylamin (1.2 eq) in abs. Tetrahydrofuran (5.5 mL / mmol Säure) wird bei  $-78^{\circ}\text{C}$  unter Rühren Pivaloylchlorid (1.2 eq) zugegeben. Dabei entsteht eine weiße Suspension, die noch 10 Minuten bei  $-78^{\circ}\text{C}$  und 30 Minuten bei  $0^{\circ}\text{C}$  gerührt wird. Das Gemisch wird erneut auf  $-78^{\circ}\text{C}$  gekühlt und eine auf  $-78^{\circ}\text{C}$  gekühlte Lösung von lithiiertem (*S*)- bzw. (*R*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon wird zugetropft. Diese wird zuvor durch Zugabe einer 1.6 M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan (1.2 eq) zu einer 3.6 M Lösung von (*S*)- bzw. (*R*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon (1.2 eq) in abs. Tetrahydrofuran bei  $-78^{\circ}\text{C}$  hergestellt. Das Reaktionsgemisch wird 3 Stunden gerührt, wobei die Temperatur langsam bis auf  $0^{\circ}\text{C}$  ansteigt, anschließend weitere 30 Minuten bei  $0^{\circ}\text{C}$ . Nach Hydrolyse mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung wird mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert.

#### 7.3.9.2 Methylierung<sup>[59]</sup>

Bei  $-78^{\circ}\text{C}$  wird eine 4.8 M Lösung des Produkts aus Reaktion 7.3.9.1 in abs. Tetrahydrofuran (1.0 eq) zu einer 1 M Lösung von NHMDS in Tetrahydrofuran (1.1 eq) zugetropft. Das Gemisch wird 30 Minuten bei  $-78^{\circ}\text{C}$  gerührt. Dann wird Methyljodid (5.0 eq) zugegeben und es wird noch 4 Stunden bei  $-78^{\circ}\text{C}$  gerührt. Nach der Zugabe von gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung wird das Reaktionsgemisch mit Diethylether extrahiert. Die

vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert.

#### 7.3.9.3 Abspaltung des chiralen Auxiliars<sup>[59]</sup>

Zu einer 7.9 M Lösung des Produkts aus Reaktion 7.3.9.2 in Tetrahydrofuran (1.0 eq) wird bei 0°C eine 1 M Lösung von Lithiumhydroxid in Wasser (4.8 eq) zugegeben. Das Gemisch wird 6 Stunden bei 0°C gerührt. Dann wird der Ansatz mit gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung neutralisiert und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

#### 7.3.10 Synthese von 6,10-Dimethyl-9-undecensäuremethylestern

Unter Stickstoff werden Magnesiumspäne (1.5 eq) mit abs. Tetrahydrofuran (0.1 mL / mmol Magnesium) übergossen und mit etwa 1/20 des Citronellylbromids (1.4 eq) versetzt. Nach dem Anspringen der Reaktion wird das restliche Citronellylbromid, gelöst in abs. Tetrahydrofuran (0.6 mL / mmol Bromid), so zugetropft, dass die Reaktion kontrolliert weiterläuft. Nach Beendigung des Zutropfens wird noch für 1 Stunde unter Rückfluss gerührt.<sup>[55]</sup>

Die Lösung wird ohne das restliche Magnesium in einen neuen Kolben überführt und auf -78 °C gekühlt. Zu diesem Ansatz werden DMAP (2.3 eq), Kupfer(I)bromid (0.05 eq) und Dimethylsulfid (0.05 eq) gegeben. Dann wird über einen Zeitraum von 30 Minuten eine Lösung von Acrylsäuremethylester (1.0 eq) und Trimethylsilylchlorid (1.2 eq) in abs. Tetrahydrofuran (0.5 mL / mmol Ester) zugetropft. Es wird 2 Stunden bei -78 °C gerührt, dann darf sich das Gemisch auf Raumtemperatur erwärmen. Das Reaktionsgemisch wird mit 2 N Salzsäure versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.<sup>[60, 61]</sup>

### 7.3.11 Gezielte Synthesen von Triacylglyceriden

#### 7.3.11.1 Synthese von 1-Alkanoyl-2,3-*O*-isopropylidenglycerinen<sup>[83]</sup>

Zu einer Lösung von 2,2-Dimethyl-4-hydroxymethyl-1,3-dioxolan (1.0 eq) und der gewünschten Säure (1.1 eq) in abs. Dichlormethan (10.0 mL / mmol Dioxolan) wird eine Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) (1.1 eq) und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) (0.7 eq) in abs. Dichlormethan (2.3 mL / mmol DCC) zugegeben. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Gemisch filtriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wird mit Wasser versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden erst mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung und danach mit Wasser bis zur Neutralität gewaschen. Zuletzt wird mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel abdestilliert.

#### 7.3.11.2 Synthese von 1-Alkanoylglycerinen<sup>[83]</sup>

Eine 0.7 M Lösung des 1-Alkanoyl-2,3-*O*-isopropylidenglycerins in abs. Dichlormethan (1.00 eq) wird auf  $-78^{\circ}\text{C}$  gekühlt. Es wird eine 1 M Lösung von Bortrichlorid in Dichlormethan (1.01 eq) zugegeben und die Reaktion wird nach 10 Minuten durch Zugabe von Tetrahydrofuran (0.7 mL / mmol 1-Alkanoyl-2,3-*O*-isopropylidenglycerin) beendet. Das Gemisch wird mit Wasser versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

#### 7.3.11.3 Synthese von 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-alkanoylglycerinen<sup>[83]</sup>

Eine Lösung von 1-Alkanoylglycerin (1.0 eq), Imidazol (2.3 eq) und *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (4.3 eq) in abs. Tetrahydrofuran (0.7 mL / mmol 1-Alkanoylglycerin) wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wird filtriert und das Lösungsmittel abdestilliert.

**7.3.11.4 Synthese von 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1,2-dialkanoylglycerinen**<sup>[83]</sup>

Zu einer Lösung des 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-alkanoylglycerins (1.0 eq) und der gewünschten Säure (1.1 eq) in abs. Dichlormethan (10.0 mL / mmol 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-alkanoylglycerin) wird eine Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) (1.1 eq) und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) (0.7 eq) in abs. Dichlormethan (2.3 mL / mmol DCC) zugegeben. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Gemisch filtriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wird mit Wasser versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden erst mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung und danach mit Wasser bis zur Neutralität gewaschen. Zuletzt wird mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel abdestilliert.

**7.3.11.5 Synthese von 1,2-Dialkanoylglycerinen**<sup>[83]</sup>

Das 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1,2-dialkanoylglycerin (1.0 eq) wird in einer Mischung aus Methanol und Dichlormethan im Volumenverhältnis 14:1 (1 mL / mmol) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Über einen Zeitraum von 5 Minuten wird 5 M Salzsäure (15.0 eq) zugetropft. Der Ansatz wird 4 Stunden bei 0 °C gerührt. Dann wird das Gemisch mit Wasser versetzt und rasch mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser bis zur Neutralität und dann mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel abdestilliert (Wasserbad < 25 °C).

Das Rohprodukt wird 2 Stunden im Hochvakuum getrocknet und anschließend ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt.

**7.3.11.6 Synthese von 1,2,3-Trialkanoylglycerinen (Triacylglyceriden)**<sup>[83]</sup>

Zu einer Lösung des 1,2-Dialkanoylglycerins (1.0 eq) und der gewünschten Säure (1.1 eq) in abs. Dichlormethan (10.0 mL / mmol 1,2-Dialkanoylglycerin) wird eine Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) (1.1 eq) und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) (0.7 eq) in abs. Dichlormethan (2.3 mL / mmol DCC) zugegeben. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Gemisch filtriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wird mit Wasser versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden erst mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung und danach



mit Wasser bis zur Neutralität gewaschen. Zuletzt wird mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel abdestilliert.

### 7.3.12 Statistische Synthesen von Triacylglyceriden<sup>[83]</sup>

Zu einer Lösung von Glycerin (1.0 eq) und einem Gemisch der gewünschten Säuren (insgesamt 3.3 eq) in abs. Dichlormethan (20 mL / mmol Glycerin) wird eine Lösung von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) (3.3 eq) und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP) (2.1 eq) in abs. Dichlormethan (2.3 mL / mmol DCC) zugetropft. Der Ansatz wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Gemisch filtriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wird mit Wasser versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden erst mit gesättigter Kaliumcarbonatlösung, danach mit Wasser bis zur Neutralität gewaschen. Zuletzt wird mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat wird das Lösungsmittel abdestilliert.

### 7.3.13 Triacylglycerid-Spaltung mit Ethylmagnesiumbromid<sup>[117]</sup>

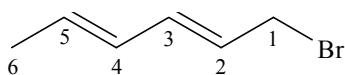
Unter Feuchtigkeitsausschluss werden Magnesiumspäne (1.2 eq) mit abs. Diethylether (0.1 mL / mmol) übergossen und unter Rühren mit etwa 1/20 des Ethylbromids (1.0 eq) versetzt. Zum Anspringen der Reaktion wird leicht erwärmt. Danach wird das restliche Ethylbromid, gelöst in abs. Diethylether (0.3 mL / mmol), so zugetropft, dass der Ether gelinde siedet. Nach Beendigung der Zugabe wird das Reaktionsgemisch noch 45 Minuten unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit abs. Diethylether verdünnt (1.6 mL / mmol Bromid).

Eine Lösung des Triacylglycerids in abs. Diethylether (5 mg / mL) wird mit frisch hergestellter 0.5 M Ethylmagnesiumbromid-Lösung (0.05 mL / mg Triacylglycerid) versetzt und 30 bzw. 60 Sekunden geschüttelt. Die Reaktion wird durch Zugabe von Eisessig (5 µL / mg Triacylglycerid) in Hexan (0.5 mL / mg Triacylglycerid) und Wasser (0.2 mL / mg Triacylglycerid) gestoppt. Die organische Phase wird zweimal mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Stickstoffstrom bei Raumtemperatur entfernt und die Hydrolyseprodukte werden sofort weiter umgesetzt (nach Vorschrift 7.2.3).

## 7.4 Synthesen der Methylester und Säuren in racemischer Form

### 7.4.1 (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäure (A)

#### 7.4.1.1 (2*E*,4*E*)-1-Brom-2,4-hexadien (35)<sup>[28]</sup>



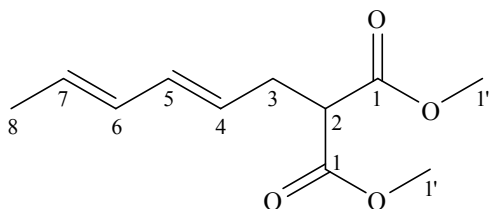
Zu einer gerührten Lösung von 4.91 g (50 mmol) (2*E*,4*E*)-2,4-Hexadien-1-ol (**34**) in 10 mL abs. Dichlormethan wird bei -10 °C langsam eine Lösung von 4.60 g (17 mmol) Phosphortribromid in 10 mL abs. Dichlormethan zugetropft (Tropftrichter). Nach Beendigung der Zugabe wird das Reaktionsgemisch noch weitere 15 – 20 Minuten gerührt, dann wird mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung hydrolysiert. Das Produkt wird mit Diethylether extrahiert und mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert.

Das Rohprodukt wird direkt weiter umgesetzt.

Ausbeute: 6.08 g (37.75 mmol; 75.5 %)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 162 (6,  $M^+$  mit  $^{81}\text{Br}$ ), 160 (6,  $M^+$  mit  $^{79}\text{Br}$ ), 81 (100), 79 (26), 66 (7), 65 (7), 53 (23), 41 (30), 39 (19)

#### 7.4.1.2 (4*E*,6*E*)-2-Methoxycarbonyl-4,6-octadiensäuremethylester (36)<sup>[29]</sup>



Bei 0 °C werden 4.62 g (35 mmol) Dimethylmalonat mit 1.16 g (38.5 mmol) Natriumhydrid (80%ige Suspension in Mineralöl) und 40 mL abs. Tetrahydrofuran versetzt und 30 Minuten gerührt. Anschließend werden 5.64 g (35 mmol) (2*E*,4*E*)-1-Brom-2,4-hexadien (**35**) zugegeben und es wird noch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit gesättigter Ammoniumchloridlösung versetzt und mit

Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

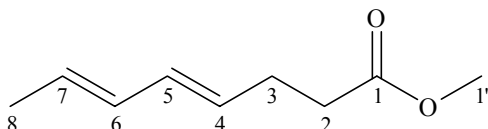
Ausbeute: 2.02 g (9.52 mmol; 27.2 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 6.10 – 5.95 (m, 2 H, H-5, H-6), 5.67 – 5.58 (m, 1 H, H-7), 5.49 – 5.42 (m, 1 H, H-4), 3.73 (s, 6 H, H-1'), 3.43 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1 H, H-2), 2.64 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2 H, H-3), 1.72 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3 H, H-8)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 169.2 (s, C-1), 133.3 (d), 131.0 (d), 128.7 (d), 125.9 (d), 52.4 (q, C-1'), 51.8 (d, C-2), 31.8 (t, C-3), 17.9 (q, C-8)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 212 (16,  $\text{M}^+$ ), 152 (24), 137 (10), 121 (10), 109 (5), 93 (100), 91 (37), 81 (37), 79 (40), 77 (40), 74 (1), 65 (14), 59 (44), 53 (18), 41 (21), 39 (25)

#### 7.4.1.3 (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (37)<sup>[29]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.1 durchgeführt. Es werden 1.49 g (7 mmol) (4*E*,6*E*)-2-Methoxycarbonyl-4,6-octadiensäuremethylester (**36**), 0.89 g (21 mmol) Lithiumchlorid, 0.13 g (7 mmol) Wasser und 13 mL Dimethylsulfoxid eingesetzt.

Das Rohprodukt ist ausreichend rein.

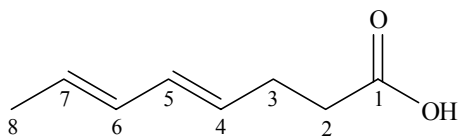
Ausbeute: 0.79 g (5.12 mmol; 73.2 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 6.08 – 5.94 (m, 2 H, H-5, H-6), 5.65 – 5.56 (m, 1 H, H-7), 5.55 – 5.47 (m, 1 H, H-4), 3.68 (s, 3 H, H-1'), 2.41 – 2.35 (m, 4 H, H-2, H-3), 1.73 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 3 H, H-8)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 173.5 (s, C-1), 131.4 (d, C-6), 131.2 (d, C-5), 129.1 (d, C-4), 127.9 (d, C-7), 51.5 (q, C-1'), 33.8 (t, C-2), 27.7 (t, C-3), 18.0 (q, C-8)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 154 (25,  $\text{M}^+$ ), 123 (5), 111 (3), 94 (49), 81 (58), 79 (100), 77 (42), 74 (5), 67 (31), 59 (27), 55 (21), 53 (29), 51 (21), 42 (36), 41 (41), 39 (52)

#### 7.4.1.4 (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäure (A)<sup>[55]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.7 durchgeführt. Es werden 0.30 g (1.9 mmol) (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäuremethylester (**37**) eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

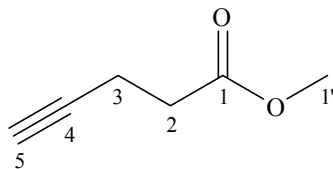
Ausbeute: 0.14 g (1.00 mmol; 52.6 %)

**$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 6.11 – 5.93 (m, 2 H, H-5, H-6), 5.76 – 5.50 (m, 2 H, H-4, H-7), 2.56 – 2.30 (m, 4 H, H-2, H-3), 1.73 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3 H, H-8)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 179.3 (s, C-1), 131.6 (d, C-5), 131.2 (d, C-6), 128.8 (d, C-4), 128.1 (d, C-7), 33.8 (t, C-2), 27.5 (t, C-3), 18.0 (q, C-8)

### 7.4.2 (4Z,6E)-4,6-Octadiensäuremethylester (44)

#### 7.4.2.1 4-Pentinsäuremethylester (39)<sup>[30]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.2 durchgeführt. Es werden 1.89 g (19.3 mmol) 4-Pentinsäure (**38**) eingesetzt.

Das Rohprodukt ist ausreichend rein.

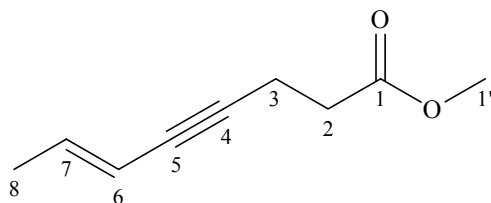
Ausbeute: 2.05 g (18.26 mmol; 94.6 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 3.71 (s, 3 H, H-1'), 2.59 – 2.48 (m, 4 H, H-2, H-3), 1.99 (t, <sup>4</sup>J = 2.5 Hz, 1 H, H-5)

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 172.1 (s, C-1), 82.4 (s, C-4), 68.9 (d, C-5), 51.7 (q, C-1'), 33.0 (t, C-2), 14.2 (t, C-3)

**EI-MS (70 eV):** m/z (%) = 112 (2, M<sup>+</sup>), 111 (18), 97 (10), 84 (29), 81 (39), 69 (9), 59 (15), 53 (100), 43 (34), 39 (23)

#### 7.4.2.2 (E)-Oct-6-en-4-insäuremethylester (42)<sup>[31, 32]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.3 durchgeführt. Es werden 0.48 g (4.0 mmol) *trans*-1-Brom-1-propen (**40**), 77 mg (0.2 mmol) Palladium(II)chlorid-benzonitril, 76 mg (0.4 mmol) Kupfer(I)iodid, 12 mL Piperidin und 0.90 g (8.0 mmol) 4-Pentinsäuremethylester (**39**) eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 19:1 verwendet.

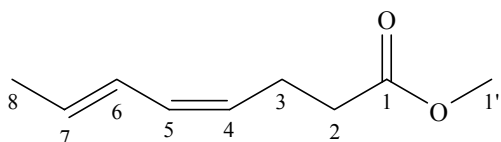
Ausbeute: 0.52 g (3.42 mmol; 85.4 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 6.06 (dq,  $J = 15.7$  Hz,  $J = 6.8$  Hz, 1 H, H-7), 5.44 (dq,  $J = 15.8$  Hz,  $J = 1.9$  Hz, 1 H, H-6), 3.70 (s, 3 H, H-1'), 2.65 – 2.49 (m, 4 H, H-2, H-3), 1.75 (dd,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 1.9$  Hz, 3 H, H-8)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 172.4 (s, C-1), 138.7 (d, C-7), 110.7 (d, C-6), 86.0 (s, C-4), 79.8 (s, C-5), 51.7 (q, C-1'), 33.5 (t, C-2), 18.4 (t, C-3), 15.2 (q, C-8)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 152 (17,  $\text{M}^+$ ), 137 (18), 124 (59), 121 (21), 109 (100), 91 (89), 79 (46), 77 (92), 74 (6), 65 (27), 63 (19), 59 (12), 53 (20), 51 (29), 41 (13), 39 (33)

#### 7.4.2.3 (4Z,6E)-4,6-Octadiensäuremethylester (44)<sup>[33, 34]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.4 durchgeführt. Es werden 174 mg (0.70 mmol) Nickel(II)acetat-Tetrahydrat, 0.70 mL 1 M Natriumborhydrid-Lösung, 84 mg (1.40 mmol) Ethylendiamin, 0.43 g (2.80 mmol) (*E*)-Oct-6-en-4-insäuremethylester (**42**) und 6.6 mL abs. Ethanol eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 19:1 verwendet.

Ausbeute: 87 mg (0.56 mmol; 20.1 %)

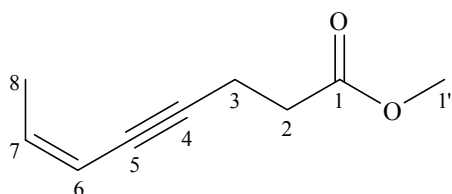
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 6.37 – 6.29 (m, 1 H, H-6), 5.98 (t,  $J = 10.9$  Hz, 1 H, H-5), 5.70 (dq,  $J = 15.0$  Hz,  $J = 6.7$  Hz, 1 H, H-7), 5.24 (dtd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 0.7$  Hz, 1 H, H-4), 3.67 (s, 3 H, H-1'), 2.52 – 2.46 (m, 2 H, H-3), 2.42 – 2.36 (m, 2 H, H-2), 1.78 (dd,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 1.6$  Hz, 3 H, H-8)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 173.5 (s, C-1), 130.2 (d, C-7), 129.9 (d, C-5), 126.7 (d, C-4), 126.6 (d, C-6), 51.5 (q, C-1'), 34.1 (t, C-2), 23.2 (t, C-3), 18.3 (q, C-8)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 154 (54,  $\text{M}^+$ ), 123 (13), 111 (4), 94 (79), 81 (75), 79 (100), 74 (7), 67 (27), 59 (10), 55 (21), 53 (26), 41 (31), 39 (31)

### 7.4.3 (4Z,6Z)-4,6-Octadiensäuremethylester (45)

#### 7.4.3.1 (Z)-Oct-6-en-4-insäuremethylester (43)<sup>[31, 32]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.3 durchgeführt. Es werden 0.48 g (4.0 mmol) *cis*-1-Brom-1-propen (**41**), 77 mg (0.2 mmol) Palladium(II)chlorid-benzonitril, 76 mg (0.4 mmol) Kupfer(I)iodid, 12 mL Piperidin und 0.90 g (8.0 mmol) 4-Pentinsäuremethylester (**39**) eingesetzt.

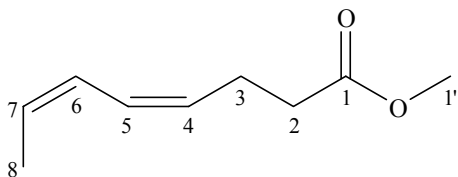
Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 19:1 verwendet.

Ausbeute: 0.56 g (3.65 mmol; 91.3 %)

**$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.91 (dq,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 6.8$  Hz, 1 H, H-7), 5.43 (dq,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 1.9$  Hz, 1 H, H-6), 3.70 (s, 3 H, H-1'), 2.76 – 2.52 (m, 4 H, H-2, H-3), 1.83 (dd,  $J = 6.8$  Hz,  $J = 1.7$  Hz, 3 H, H-8)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 172.4 (s, C-1), 137.6 (d, C-7), 110.0 (d, C-6), 92.4 (s, C-4), 77.8 (s, C-5), 51.7 (q, C-1'), 33.6 (t, C-2), 15.6 (q, C-8), 15.4 (t, C-3)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 152 (42,  $\text{M}^+$ ), 137 (22), 124 (64), 121 (22), 109 (100), 91 (92), 79 (53), 77 (91), 74 (7), 65 (31), 63 (22), 59 (12), 53 (22), 51 (31), 41 (13), 39 (34)

7.4.3.2 (4Z,6Z)-4,6-Octadiensäuremethylester (45)<sup>[33, 34]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.4 durchgeführt. Es werden 174 mg (0.70 mmol) Nickel(II)acetat-Tetrahydrat, 0.70 mL 1 M Natriumborhydrid-Lösung, 84 mg (1.40 mmol) Ethylendiamin, 0.43 g (2.80 mmol) (Z)-Oct-6-en-4-insäuremethylester (**43**) und 6.6 mL abs. Ethanol eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 19:1 verwendet.

Ausbeute: 225 mg (1.46 mmol; 52.1 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 6.41 – 6.24 (m, 2 H, H-5, H-6), 5.62 – 5.52 (m, 1 H, H-7), 5.46 – 5.37 (m, 1 H, H-4), 3.67 (s, 3 H, H-1'), 2.53 – 2.46 (m, 2 H, H-3), 2.43 – 2.36 (m, 2 H, H-2), 1.75 (dd,  $J = 6.7$  Hz,  $J = 1.7$  Hz, 3 H, H-8)

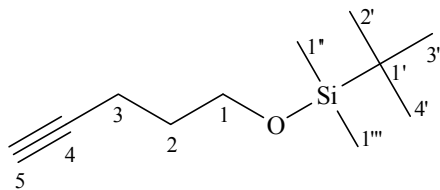
**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.4 (s, C-1), 128.8 (d, C-4), 127.0 (d, C-7), 124.6 (d, C-5), 124.0 (d, C-6), 51.5 (q, C-1'), 34.0 (t, C-2), 23.0 (t, C-3), 13.1 (q, C-8)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 154 (41, M<sup>+</sup>), 123 (10), 111 (3), 94 (74), 81 (67), 79 (100), 74 (6), 67 (25), 59 (10), 55 (20), 53 (25), 41 (30), 39 (31)



#### 7.4.4 (4E,6Z)-4,6-Octadiensäuremethylester (51)

##### 7.4.4.1 1-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-4-pentin (47)<sup>[35, 36]</sup>



Eine Lösung von 2.94 g (35.00 mmol) 4-Pentin-1-ol (**46**), 4.92 g (71.00 mmol) Imidazol und 7.97 g (53.00 mmol) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid in 20 mL abs. Dimethylformamid wird für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung versetzt und mit einem Gemisch aus Ethylacetat und *n*-Hexan im Volumenverhältnis 1:1 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

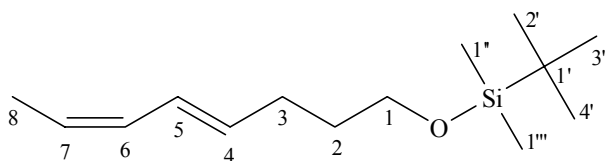
Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 30:1 verwendet.

Ausbeute: 5.11 g (25.76 mmol; 73.6 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 3.70 (t,  $J$  = 6.0 Hz, 2 H, H-1), 2.27 (td,  $^3J$  = 7.1 Hz,  $^4J$  = 2.6 Hz, 2 H, H-3), 1.92 (t,  $^4J$  = 2.7 Hz, 1 H, H-5), 1.72 (tt,  $J$  = 7.1 Hz,  $J$  = 6.1 Hz, 2 H, H-2), 0.90 (s, 9 H, H-2', H-3', H-4'), 0.06 (s, 6 H, H-1'', H-1''')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 84.2 (s, C-4), 68.2 (d, C-5), 61.4 (t, C-1), 31.5 (t, C-2), 25.9 (q, C-2', C-3', C-4'), 18.3 (s, C-1'), 14.8 (t, C-3), -5.4 (q, C-1'', C-1''')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 183 (1), 155 (3), 141 (100), 123 (3), 111 (29), 99 (8), 83 (10), 75 (85), 67 (3), 59 (12), 45 (9), 41 (9)

7.4.4.2 (4*E*,6*Z*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-4,6-octadien (48)<sup>[37]</sup>

Unter Stickstoff werden 4.56 g (22.98 mmol) 1-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-4-pentin (**47**) mit 3.00 g (25.00 mmol) Catecholboran versetzt und 5 Stunden auf 70°C erhitzt. Das entstandene Produkt wird ohne Reinigung weiter umgesetzt.

Es werden 1.32 g (1.15 mmol) Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) vorgelegt und mit einer Lösung von 3.06 g (25.27 mmol) cis-1-Brom-1-propen (**41**) in 27 mL abs. Toluol versetzt. Das Gemisch wird 30 Minuten gerührt, dann wird das zuvor hergestellte (*E*)-1-(5-*tert*-Butyl-dimethylsilyloxypentenyl)-catecholboran in 27 mL abs. Toluol zugegeben. Danach werden 23.40 mL (46.81 mmol) einer frisch hergestellten 2 M Lösung von Natriumethanolat in Ethanol zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird 3 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur werden 32 mL 3 M Natronlauge und 3.2 mL Wasserstoffperoxid (30%) zugegeben und es wird noch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird das Gemisch mit 80 mL Diethylether und 30 mL Wasser versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase wird dreimal mit je 30 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden viermal mit je 25 mL 3 M Natronlauge und mit 40 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 80:1 verwendet.

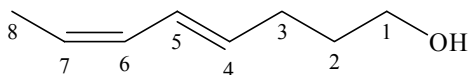
Ausbeute: 1.48 g (6.15 mmol; 26.8 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 6.38 – 6.30 (m, 1 H, H-5), 6.00 – 5.94 (m, 1 H, H-6), 5.66 (dt, *J* = 15.1 Hz, *J* = 7.0 Hz, 1 H, H-4), 5.37 (dq, *J* = 10.7 Hz, *J* = 7.1 Hz, 1 H, H-7), 3.62 (t, *J* = 6.4 Hz, 2 H, H-1), 2.20 – 2.14 (m, 2 H, H-3), 1.73 (dd, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.7 Hz, 3 H, H-8), 1.66 – 1.58 (m, 2 H, H-2), 0.90 (s, 9 H, H-2', H-3', H-4'), 0.05 (s, 6 H, H-1'', H-1''')

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 133.8 (d, C-4), 129.5 (d, C-6), 125.7 (d, C-5), 124.0 (d, C-7), 62.5 (t, C-1), 32.5 (t, C-2), 29.1 (t, C-3), 26.0 (q, C-2', C-3', C-4'), 18.3 (s, C-1'), 13.2 (q, C-8), -5.3 (q, C-1'', C-1''')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 240 (0.1,  $\text{M}^+$ ), 225 (3), 183 (73), 165 (2), 153 (25), 141 (14), 127 (8), 115 (8), 108 (36), 101 (31), 93 (65), 89 (54), 79 (30), 75 (100), 67 (9), 59 (23), 53 (8), 45 (8), 41 (21)

#### 7.4.4.3 (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadien-1-ol (49)<sup>[36, 37, 38]</sup>



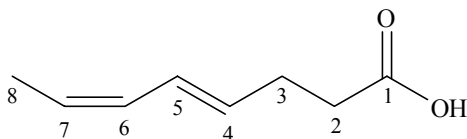
Zu einer Lösung von 1.30 g (5.40 mmol) (4*E*,6*Z*)-1-*tert*-Butyldimethylsilyloxy-4,6-octadien (**48**) in 30 mL abs. Tetrahydrofuran werden bei 0°C 7.34 mL (7.34 mmol) einer 1 M Lösung von Tetrabutylammoniumfluorid in Tetrahydrofuran zugetropft. Das Gemisch darf sich auf Raumtemperatur erwärmen und wird noch 2 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Es wird mit 15 mL 2 M Ammoniumchlorid-Lösung hydrolysiert. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase wird dreimal mit je 15 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden viermal mit je 25 mL 3 M Natronlauge und mit 15 mL gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 1:1 verwendet.

Ausbeute: 0.43 g (3.11 mmol; 57.6 %)

**$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 6.41 – 6.33 (m, 1 H, H-5), 6.00 – 5.94 (m, 1 H, H-6), 5.67 (dt,  $J = 15.1$  Hz,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, H-4), 5.45 – 5.36 (m, 1 H, H-7), 3.67 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2 H, H-1), 2.24 – 2.17 (m, 2 H, H-3), 1.74 (dd,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.6$  Hz, 3 H, H-8), 1.72 – 1.65 (m, 2 H, H-2)

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 133.3 (d, C-4), 129.3 (d, C-6), 126.0 (d, C-5), 124.4 (d, C-7), 62.5 (t, C-1), 32.3 (t, C-2), 29.2 (t, C-3), 13.3 (q, C-8)

7.4.4.4 (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäure (50)<sup>[39]</sup>

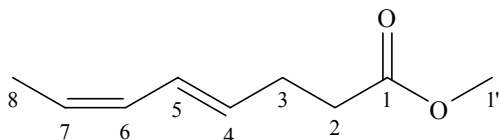
Unter Stickstoff wird bei 0°C eine Lösung von 304 mg (2.20 mmol) (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadien-1-ol (**49**) in 6 mL abs. Dimethylformamid zu einer Lösung von 4.97 g (13.22 mmol) Pyridiniumdichromat in 4 ml abs. Dimethylformamid gegeben. Das Gemisch wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und dann in Wasser gegossen. Es wird mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird abdestilliert.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 87 mg (0.62 mmol; 28.2 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 6.43 – 6.36 (m, 1 H, H-5), 6.00 – 5.93 (m, 1 H, H-6), 5.69 – 5.61 (m, 1 H, H-4), 5.43 (dq,  $J = 10.8$  Hz,  $J = 7.1$  Hz, 1 H, H-7), 2.50 – 2.40 (m, 4 H, H-2, H-3), 1.74 (dd,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, 3 H, H-8)

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 178.9 (s, C-1), 131.2 (d, C-4), 129.0 (d, C-6), 126.7 (d, C-5), 125.2 (d, C-7), 33.8 (t, C-2), 27.8 (t, C-3), 13.3 (q, C-8)

7.4.4.5 (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäuremethylester (51)<sup>[30]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.2 durchgeführt. Es werden 29 mg (0.21 mmol) (4*E*,6*Z*)-4,6-Octadiensäure (**50**) eingesetzt.

Das Rohprodukt ist ausreichend rein.

Ausbeute: 11 mg (0.07 mmol; 35.2 %)

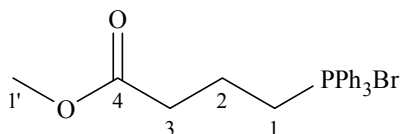
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 6.38 (ddd,  $J = 15.1$  Hz,  $J = 10.9$  Hz,  $J = 1.05$  Hz, 1 H, H-5), 5.96 (tqd,  $J = 10.9$  Hz,  $J = 1.8$  Hz,  $J = 0.6$  Hz, 1 H, H-6), 5.67 – 5.60 (m, 1 H, H-4), 5.42 (dq,  $J = 10.8$  Hz,  $J = 7.1$  Hz, 1 H, H-7), 3.68 (s, 3 H, H-1'), 2.46 – 2.35 (m, 4 H, H-2, H-3), 1.73 (dd,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.7$  Hz, 3 H, H-8)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 173.5 (s, C-1), 131.5 (d, C-4), 129.1 (d, C-6), 126.5 (d, C-5), 125.0 (d, C-7), 51.6 (q, C-1'), 33.9 (t, C-2), 28.1 (t, C-3), 13.3 (q, C-8)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 154 (59,  $\text{M}^+$ ), 139 (1), 123 (11), 111 (4), 94 (77), 81 (71), 79 (100), 74 (6), 67 (23), 55 (17), 53 (21), 41 (25), 39 (25)

#### 7.4.5 4,6-Decadiensäuremethylester

##### 7.4.5.1 (3-Methoxycarbonylpropyl)-triphenylphosphoniumbromid (53)<sup>[42]</sup>

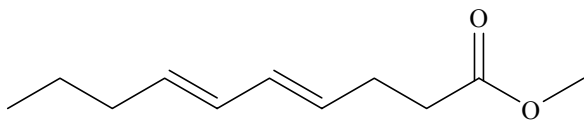


Eine Mischung aus 5.43 g (30 mmol) 4-Brombuttersäuremethylester (**52**) und 7.87 g (30 mmol) Triphenylphosphin wird 5 Stunden bei 160 °C gerührt. Das abgekühlte Reaktionsprodukt wird in wenig Dichlormethan gelöst und säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Dichlormethan und Methanol im Volumenverhältnis 10:1 verwendet.

Ausbeute: 12.24 g (27.61 mmol; 92.0 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.91 – 7.69 (m, 15 H, Aromat), 4.01 – 3.94 (m, 2 H, H-1), 3.64 (s, 3 H, H-1'), 2.89 (dt,  $^3J = 6.6$  Hz,  $^4J = 0.9$  Hz, 2 H, H-3), 1.99 – 1.90 (m, 2 H, H-2)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 173.1 (C-4), 135.0 (d,  $^4J_{\text{P-C}} = 2.9$  Hz, C-4''), 133.5 (d,  $^2J_{\text{P-C}} = 10.1$  Hz, C-2'', C-6''), 130.3 (d,  $^3J_{\text{P-C}} = 12.6$  Hz, C-3'', C-5''), 117.8 (d,  $^1J_{\text{P-C}} = 86.1$  Hz, C-1''), 51.5 (C-1'), 32.9 (d,  $^3J_{\text{P-C}} = 18.1$  Hz, C-3), 21.5 (d,  $^1J_{\text{P-C}} = 51.5$  Hz, C-1), 17.8 (C-2)

7.4.5.2 (4*E*,6*E*)-4,6-Decadiensäuremethylester (55)<sup>[42, 43]</sup>

Zu einer Suspension von 7.09 g (15.99 mmol) (4-Methoxy-4-oxobutyl)-triphenylphosphoniumbromid (**53**) in 100 mL abs. Tetrahydrofuran werden bei -78 °C 9.49 mL (18.98 mmol) einer 2 M Lösung von Natrium-bis-(trimethylsilyl)-amid in Tetrahydrofuran zugetropft. Das Gemisch wird noch 90 Minuten gerührt, dabei wird die Temperatur knapp unterhalb von -70 °C gehalten. Danach werden bei -78 °C 0.98 g (10.00 mmol) (*E*)-2-Hexen-1-al (**54**) in 44 mL abs. Tetrahydrofuran zu der orangegelben Ylidlösung zugegeben. Es wird noch 60 Minuten bei -78 °C gerührt, dann wird die Suspension mit gesättigter Ammoniumchloridlösung hydrolysiert. Nachdem sich das Gemisch auf Raumtemperatur erwärmt hat, wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit Diethylether aufgenommen. Die Lösung wird mit gesättigter Ammoniumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel erneut unter vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

Das Produkt enthält neben dem (4*E*,6*E*)-Isomer auch einen geringen Anteil des (4*Z*,6*E*)-Isomers (*E*:*Z*-Verhältnis gemäß Gaschromatogramm etwa 5:1).

Ausbeute: 0.40 g (2.19 mmol; 21.9 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 6.10 – 5.93 (m, 2 H, H-5, H-6), 5.64 – 5.50 (m, 2 H, H-4, H-7), 3.68 (s, 3 H, H-1'), 2.47 – 2.35 (m, 4 H, H-2, H-3), 2.18 – 2.02 (m, 2 H, H-8), 1.42 – 1.34 (m, 2 H, H-9), 0.89 (t, *J* = 7.2 Hz, 3 H, H-10)

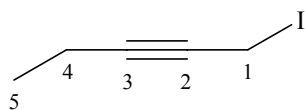
**<sup>13</sup>C-NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 173.5 (s, C-1), 133.4 (d), 132.9 (d), 129.7 (d), 128.8 (d), 51.5 (q, C-1'), 33.7 (t, C-2), 32.5 (t, C-8), 27.7 (t, C-3), 22.8 (t, C-9), 13.7 (q, C-10)

**(4*E*,6*E*)-Isomer:**

**EI-MS (70 eV):** *m/z* (%) = 182 (19, M<sup>+</sup>), 150 (5), 122 (14), 108 (24), 93 (40), 79 (100), 74 (3), 67 (47), 59 (19), 55 (13), 53 (15), 51 (10), 41 (33), 39 (28)

**(4Z,6E)-Isomer:**

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 182 (17,  $M^+$ ), 150 (4), 122 (14), 108 (24), 93 (39), 79 (100), 74 (3), 67 (50), 59 (22), 55 (14), 53 (15), 51 (9), 41 (32), 39 (28)

**7.4.6 (4Z,7Z)-4,7-Decadiensäuremethylester (60)****7.4.6.1 1-Iod-2-pentin (58)<sup>[44]</sup>**

Es werden 8.09 g (54.0 mmol) Natriumiodid zu einer Lösung von 4.41 g (30.0 mmol) 1-Brom-2-pentin (**57**) in 18 mL abs. Aceton gegeben. Es wird 5 Stunden unter Rückfluss gekocht, dann wird das Gemisch abgekühlt und mit Wasser und Diethylether versetzt. Die organische Phase wird mit verdünnter Natriumhydrogensulfidlösung und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird abdestilliert.

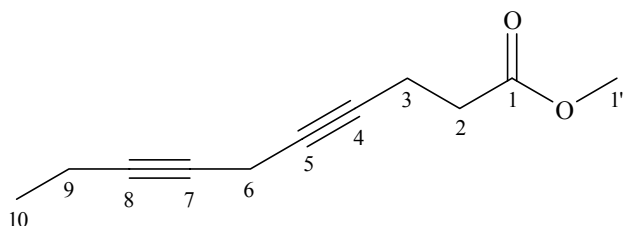
Das Rohprodukt ist ausreichend rein.

Ausbeute: 5.11 g (26.34 mmol; 87.8 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 3.71 (t,  $^5J = 2.4$  Hz, 2 H, H-1), 2.21 (qt,  $^3J = 7.5$  Hz,  $^5J = 2.4$  Hz, 2 H, H-4), 1.12 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 3 H, H-5)

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 87.9 (s, C-3), 76.4 (s, C-2), 13.4 (q, C-5), 12.8 (t, C-4), -16.8 (t, C-1)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 194 (25,  $M^+$ ), 127 (74), 67 (100), 52 (27), 51 (29), 50 (26), 41 (71), 39 (59)

7.4.6.2 4,7-Decadiinsäuremethylester (59)<sup>[45]</sup>

Bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  werden 1.17 g (6.1 mmol) 1-Iod-2-pentin (**58**), 0.62 g (5.5 mmol) 4-Pentinsäuremethylester (**39**), 1.05 g (5.5 mmol) Kupfer(I)iodid, 1.53 g (5.5 mmol) *n*-Butylammoniumchlorid und 0.87 g (8.3 mmol) Natriumcarbonat in 10 mL Dimethylformamid vermischt. Anschließend wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Hydrolyse mit gesättigter Ammoniumchloridlösung wird mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

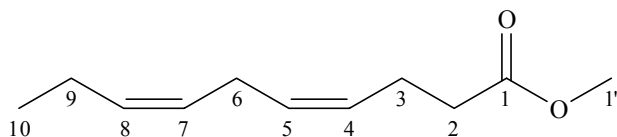
Ausbeute: 0.62 g (3.47 mmol; 63.0 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 3.70 (s, 3 H, H-1'), 3.13 – 3.08 (quin,  $J = 2.3$  Hz, 2 H, H-6), 2.55 – 2.46 (m, 4 H, H-2, H-3), 2.17 (qt,  $J = 7.5$  Hz,  $J = 2.4$  Hz, 2 H, H-9), 1.12 (t,  $J = 7.5$  Hz, 3 H, H-10)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 172.4 (s, C-1), 81.9 (s), 78.2 (s), 75.4 (s), 73.4 (s), 51.7 (q, C-1'), 33.3 (t, C-2), 14.6 (t), 13.8 (q, C-10), 12.3 (t), 9.6 (t, C-6)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 178 (1,  $\text{M}^+$ ), 177 (6), 163 (21), 147 (15), 135 (31), 121 (32), 119 (33), 117 (35), 103 (37), 91 (100), 77 (62), 74 (10), 65 (29), 63 (29), 59 (18), 51 (31), 41 (27), 39 (33)



7.4.6.3 (4Z,7Z)-4,7-Decadiensäuremethylester (60)<sup>[33, 34]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.4 durchgeführt. Es werden 87 mg (0.35 mmol) Nickel(II)acetat-Tetrahydrat, 0.35 mL 1 M Natriumborhydrid-Lösung, 42 mg (0.70 mmol) Ethylendiamin, 0.25 g (1.40 mmol) 4,7-Decadiensäuremethylester (**59**) und 3.3 mL abs. Ethanol eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 19:1 verwendet.

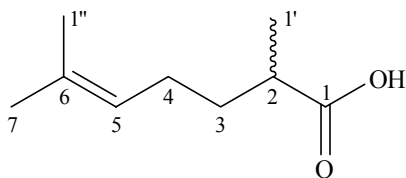
Ausbeute: 0.05 g (0.27 mmol; 19.6 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.44 – 5.26 (m, 4 H, H-4, H-5, H-7, H-8), 3.68 (s, 3 H, H-1'), 2.80 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 2 H, H-6), 2.43 – 2.29 (m, 4 H, H-2, H-3), 2.11 – 2.01 (m, 2 H, H-9), 0.97 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 3 H, H-10)

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.6 (s, C-1), 132.1 (d), 129.7 (d), 127.5 (d), 126.9 (d), 51.5 (q, C-1'), 34.0 (t, C-2), 25.4 (t), 22.7 (t), 20.5 (t), 14.2 (q, C-10)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 182 (2, M<sup>+</sup>), 150 (32), 122 (6), 108 (43), 93 (38), 79 (100), 74 (5), 67 (10), 59 (15), 55 (23), 41 (39), 39 (31)

## 7.4.7 2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (71)

7.4.7.1 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (69)<sup>[49, 50]</sup>

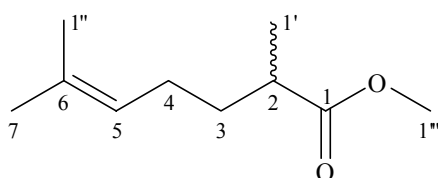
Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.5 durchgeführt. Es werden 4.59 g (27 mmol) Silbernitrat und 3.37 g (19.2 mmol) 2,6-Dimethyl-5-heptenal (67) eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

Ausbeute: 2.29 g (14.66 mmol; 76.3 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tsept,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-5), 2.51 – 2.43 (m, 1 H, H-2), 2.06 – 2.00 (m, 2 H, H-4), 1.79 – 1.70 (m, 1 H, H-3), 1.68 (d,  $^4J = 0.9$  Hz, 3 H, H-7), 1.60 (s, 3 H, H-1''), 1.50 – 1.41 (m, 1 H, H-3), 1.18 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 183.6 (s, C-1), 132.4 (s, C-6), 123.5 (d, C-5), 38.9 (d, C-2), 33.5 (t, C-3), 25.64 (q, C-7), 25.59 (t, C-4), 17.6 (q, C-1''), 16.8 (q, C-1')

7.4.7.2 2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (71)<sup>[30]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.2 durchgeführt. Es werden 200 mg (1.28 mmol) 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (69) eingesetzt.

Eine Reinigung des Produkts war nicht nötig.

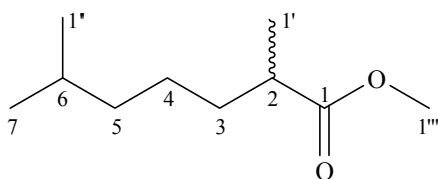
Ausbeute: 209 mg (1.23 mmol; 95.9 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.08 (tquin,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-5), 3.67 (s, 3 H, H-1'''), 2.49 – 2.41 (m, 1 H, H-2), 2.01 – 1.95 (m, 2 H, H-4), 1.76 – 1.67 (m, 1 H, H-3), 1.68 (d,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, H-7), 1.59 (d,  $J = 0.5$  Hz, 3 H, H-1''), 1.47 – 1.39 (m, 1 H, H-3), 1.15 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-1')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.2 (s, C-1), 132.1 (s, C-6), 123.6 (d, C-5), 51.4 (q, C-1'''), 38.9 (d, C-2), 33.8 (t, C-3), 25.7 (t, C-4; q, C-7), 17.6 (q, C-1''), 17.0 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 170 (30,  $\text{M}^+$ ), 139 (15), 110 (14), 95 (13), 88 (100), 83 (50), 69 (50), 67 (26), 57 (39), 55 (27), 41 (61), 39 (23)

#### 7.4.8 2,6-Dimethylheptansäuremethylester (73)



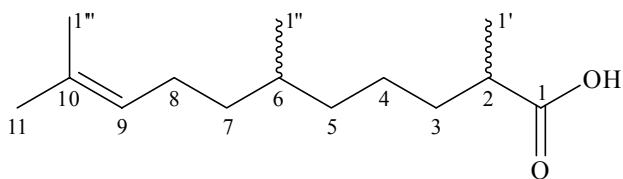
Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.6 durchgeführt. Es werden 209 mg (1.23 mmol) 2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**71**) und 8 mL Pentan eingesetzt.

Ausbeute: 200 mg (1.16 mmol; 94.4 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 3.67 (s, 3 H, H-1'''), 2.44 (sext,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, H-2), 1.68 – 1.57 (m, 1 H, H-3), 1.56 – 1.47 (m, 1 H, H-6), 1.43 – 1.33 (m, 1 H, H-3), 1.32 – 1.20 (m, 2 H, H-4), 1.19 – 1.13 (m, 2 H, H-5), 1.14 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-1'), 0.86 (d,  $J = 6.6$  Hz, 6 H, H-7, H-1'')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.4 (s, C-1), 51.4 (q, C-1'''), 39.5 (d, C-2), 38.8 (t, C-5), 34.1 (t, C-3), 27.8 (d, C-6), 25.0 (t, C-4), 22.55 (q), 22.52 (q), 17.0 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 172 (1,  $\text{M}^+$ ), 157 (3), 141 (5), 129 (9), 115 (4), 101 (40), 97 (10), 88 (100), 82 (3), 69 (16), 59 (16), 57 (26), 55 (23), 43 (23), 41 (32), 39 (12)

7.4.9 *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (B)<sup>[55]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.7 durchgeführt. Es werden 0.50 g (2.1 mmol) *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 0.33 g (1.46 mmol; 69.4 %)

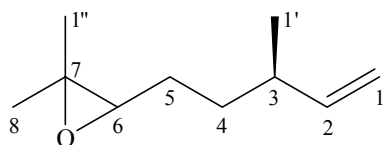
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tsept,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 2.50 – 2.42 (m, 1 H, H-2), 2.00 – 1.89 (m, 2 H, H-8), 1.71 – 1.63 (m, 1 H, H-3), 1.68 (d,  $^4J = 0.9$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (s, 3 H, H-14), 1.44 – 1.21 (m, 6 H, H-3, H-4, H-5, H-6), 1.18 (d,  $J = 7.1$  Hz, 3 H, H-12), 1.15 – 1.08 (m, 2 H, H-7), 0.86 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-13)

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 183.4 (s, C-1), 131.0 (s, C-10), 125.0 (d, C-9), 39.42 / 39.38 (d, C-2), 37.08 / 37.07 (t, C-7), 36.8 (t, C-5), 33.84 / 33.79 (t, C-3), 32.2 (d, C-6), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t, C-8), 24.58 / 24.54 (t, C-4), 19.5 (q, C-1''), 17.6 (q, C-1'''), 16.9 / 16.8 (q, C-1')

## 7.5 Enantioselektive Synthesen der Methylester und Säuren

### 7.5.1 (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (72)

#### 7.5.1.1 (*R*)-6,7-Epoxy-3,7-dimethyl-1-octen (66)<sup>[51]</sup>



Unter Kühlung wird zu einer Lösung von 6.20 g (44.85 mmol) (–)-( $\beta$ )-Citronellen (**65**) in 40 mL Chloroform eine Lösung von 11.06 g (44.85 mmol) *m*-Chlorperbenzoesäure (enthält ca. 25% *m*-Chlorbenzoesäure) in 100 mL Chloroform über einen Zeitraum von 1.5 Stunden so zugetropft, dass die Temperatur des Reaktionsgemisches nicht über  $-10^{\circ}\text{C}$  steigt. Es wird noch 2 Stunden bei  $-10^{\circ}\text{C}$  gerührt. Dann wird die *m*-Chlorbenzoesäure abfiltriert und das Filtrat darf sich auf Raumtemperatur erwärmen. Es wird mit 40 mL einer 0.45 M Natronlauge, 40 mL einer 5%igen Natriumcarbonat-Lösung und mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 6.45 g (41.82 mmol, 93.2 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.74 – 5.63 (m, 1 H, H-2), 5.00 – 4.92 (m, 2 H, H-1), 2.72 – 2.69 (m, 1 H, H-6), 2.21 – 2.13 (m, 1 H, H-3), 1.58 – 1.32 (m, 4 H, H-4, H-5), 1.31 (d,  $J = 0.7$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 1.26 (d,  $J = 0.9$  Hz, 3 H,  $\text{CH}_3$ ), 1.02 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H, H-1')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 144.1 / 144.0 (d, C-2), 113.1 / 112.9 (t, C-1), 64.5 / 64.4 (d, C-6), 37.7 / 37.5 (d, C-3), 33.3 / 33.1 (t, C-4), 26.7 / 26.5 (t, C-5), 24.9 (q), 20.3 / 20.1 (q, C-1'), 18.7 / 18.6 (q)

**Retentionszeit 9.01 Minuten:**

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 139 (1), 111 (2), 95 (7), 85 (7), 81 (100), 67 (33), 59 (38), 55 (49), 43 (21), 41 (40), 39 (28)

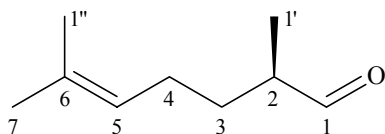
**Retentionszeit 9.07 Minuten:**

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 139 (2), 111 (2), 95 (7), 85 (7), 81 (100), 67 (33), 59 (37), 55 (47), 43 (19), 41 (38), 39 (26)

$[\alpha]_D^{22} = -5.3$  ( $c = 4.5$ , Diethylether)

$ee = 52.8$  % (gaschromatographisch, s. **Tabelle 9-3**)

**7.5.1.2 (R)-2,6-Dimethyl-5-heptenal (68)<sup>[51]</sup>**



Durch eine Lösung von 0.77 g (5.0 mmol) (*R*)-6,7-Epoxy-3,7-dimethyl-1-octen (**66**) in 43 mL abs. Dichlormethan wird bei  $-70^{\circ}\text{C}$  Ozon hindurchgeleitet, bis das Gemisch eine leicht blaue Farbe annimmt. Der Überschuss an Ozon und Sauerstoff wird so schnell wie möglich entfernt, indem für 40 Minuten Stickstoff durch das Gemisch geleitet wird. Dann wird die Lösung bei Raumtemperatur auf ein Volumen von 5 mL eingeeengt, auf  $0^{\circ}\text{C}$  gekühlt und in eine kalte Suspension von 1.86 g (28.45 mmol) Zink, 0.70 g (5.15 mmol) Natriumacetat und 1.28 g (8.51 mmol) Natriumiodid in 4.84 mL Essigsäure gegeben. Ein Großteil des Dichlormethan wird unter vermindertem Druck entfernt, und das Gemisch wird noch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dann wird das Zink abfiltriert und das Filtrat mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wird abdestilliert.

Ausbeute: 593 mg (4.23 mmol, 84.6 %)

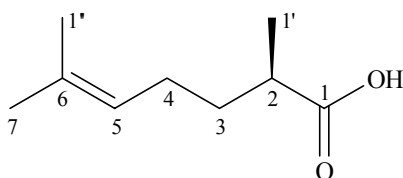
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 9.62 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1 H, H-1), 5.08 (tquin,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-5), 2.39 – 2.30 (m, 1 H, H-2), 2.09 – 1.99 (m, 2 H, H-4), 1.81 – 1.72 (m, 1 H, H-3), 1.69 (d,  $^4J = 1.3$  Hz, 3 H, H-7), 1.60 (d,  $J = 0.7$  Hz, 3 H, H-1'), 1.44 – 1.36 (m, 1 H, H-3), 1.09 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-1')

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 205.2 (d, C-1), 132.7 (s, C-6), 123.4 (d, C-5), 45.8 (d, C-2), 30.7 (t, C-3), 25.7 (q, C-7), 25.3 (t, C-4), 17.7 (q, C-1''), 13.3 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 140 (5,  $\text{M}^+$ ), 82 (100), 69 (35), 67 (63), 55 (25), 53 (11), 41 (63), 39 (24)

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -16.6$  ( $c = 2.0$ , Diethylether)

### 7.5.1.3 (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäure (70)<sup>[49, 50]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.5 durchgeführt. Es werden 836 mg (4.92 mmol) Silbernitrat und 491 mg (3.50 mmol) (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptenal (**68**) eingesetzt.

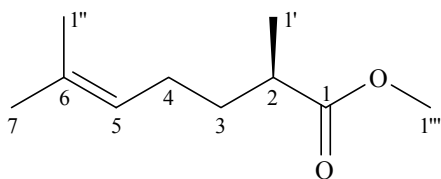
Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

Ausbeute: 227 mg (1.45 mmol; 41.6 %)

**$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-5), 2.51 – 2.39 (m, 1 H, H-2), 2.06 – 2.00 (m, 2 H, H-4), 1.79 – 1.65 (m, 1 H, H-3), 1.68 (d,  $^4J = 1.1$  Hz, 3 H, H-7), 1.60 (d,  $J = 0.6$  Hz, 3 H, H-1''), 1.50 – 1.41 (m, 1 H, H-3), 1.18 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-1')

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 182.5 (s, C-1), 132.3 (s, C-6), 123.5 (d, C-5), 38.8 (d, C-2), 33.5 (t, C-3), 25.65 (q, C-7), 25.59 (t, C-4), 17.6 (q, C-1''), 16.8 (q, C-1')

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -10.8$  ( $c = 2.9$ , Diethylether)

7.5.1.4 (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (72)<sup>[30]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.2 durchgeführt. Es werden 200 mg (1.28 mmol) (*R*)-2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**70**) eingesetzt.

Eine Reinigung des Produkts war nicht nötig.

Ausbeute: 175 mg (1.03 mmol; 80.2 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.08 (tquin,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-5), 3.67 (s, 3 H, H-1'''), 2.49 – 2.41 (m, 1 H, H-2), 2.01 – 1.95 (m, 2 H, H-4), 1.79 – 1.66 (m, 1 H, H-3), 1.68 (d,  $^4J = 1.2$  Hz, 3 H, H-7), 1.59 (d,  $J = 0.6$  Hz, 3 H, H-1''), 1.48 – 1.36 (m, 1 H, H-3), 1.15 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-1')

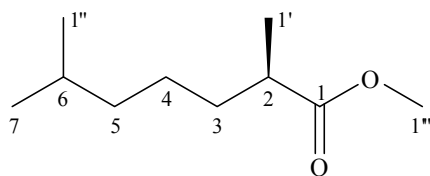
**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 177.3 (s, C-1), 132.2 (s, C-6), 123.6 (d, C-5), 51.4 (q, C-1'''), 38.9 (d, C-2), 33.8 (t, C-3), 25.70 (q, C-7), 25.69 (t, C-4), 17.6 (q, C-1''), 17.1 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 170 (18, M<sup>+</sup>), 139 (9), 110 (9), 95 (9), 88 (100), 83 (37), 69 (39), 67 (20), 57 (31), 55 (22), 41 (53), 39 (19)

**$[\alpha]_D^{22}$**  = −7.1 ( $c = 1.5$ , Diethylether)

**ee** = 41.7 % (gaschromatographisch, s. **Tabelle 9-3**)



7.5.2 (*R*)-2,6-Dimethylheptansäuremethylester (74)

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.6 durchgeführt. Es werden 100 mg (0.59 mmol) 2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester (**72**) und 4 mL Pentan eingesetzt.

Ausbeute: 82 mg (0.48 mmol; 81.5 %)

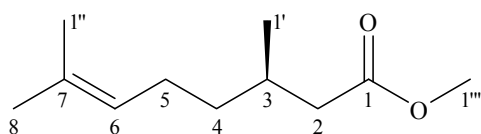
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 3.67 (s, 3 H, H-1'''), 2.44 (sext,  $J = 7.0$  Hz, 1 H, H-2), 1.68 – 1.57 (m, 1 H, H-3), 1.56 – 1.47 (m, 1 H, H-6), 1.43 – 1.32 (m, 1 H, H-3), 1.32 – 1.23 (m, 2 H, H-4), 1.19 – 1.13 (m, 2 H, H-5), 1.14 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-1'), 0.86 (d,  $J = 6.6$  Hz, 6 H, H-7, H-1'')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.4 (s, C-1), 51.4 (q, C-1'''), 39.5 (d, C-2), 38.8 (t, C-5), 34.0 (t, C-3), 27.8 (d, C-6), 25.0 (t, C-4), 22.6 (q), 22.5 (q), 17.1 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 172 (1,  $\text{M}^+$ ), 157 (3), 141 (5), 129 (8), 115 (4), 101 (35), 97 (8), 88 (100), 82 (2), 69 (13), 59 (15), 57 (23), 55 (21), 43 (22), 41 (32), 39 (11)

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -7.5$  ( $c = 0.7$ , Diethylether)

ee = 52.0 % (gaschromatographisch, s. **Tabelle 9-3**)

7.5.3 (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester (78)<sup>[30]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.2 durchgeführt. Es werden 100 mg (0.59 mmol) (*R*)-3,7-Dimethyl-6-octensäure (**6e**) eingesetzt.

Eine Reinigung des Produkts war nicht nötig.

Ausbeute: 84 mg (0.46 mmol; 77.3 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1 H, H-6), 3.67 (s, 3 H, H-1'''), 2.32 (dd, *J* = 14.7 Hz, *J* = 5.9 Hz, 1 H, H-2), 2.12 (dd, *J* = 14.7 Hz, *J* = 8.2 Hz, 1 H, H-2), 2.02 – 1.92 (m, 3 H, H-3, H-5), 1.68 (d, *J* = 1.2 Hz, 3 H, H-8), 1.60 (d, *J* = 0.5 Hz, 3 H, H-1''), 1.39 – 1.17 (m, 2 H, H-4), 0.94 (d, *J* = 6.7 Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.7 (s, C-1), 131.5 (s, C-7), 124.3 (d, C-6), 51.3 (q, C-1'''), 41.6 (t, C-2), 36.8 (t, C-4), 30.0 (d, C-3), 25.7 (q, C-8), 25.4 (t, C-5), 19.6 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

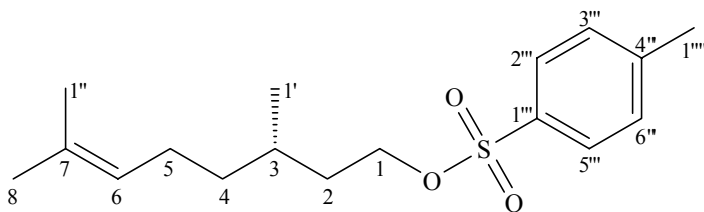
**EI-MS (70 eV):** *m/z* (%) = 184 (15, M<sup>+</sup>), 152 (71), 137 (10), 129 (7), 110 (86), 95 (87), 82 (44), 74 (31), 69 (100), 59 (32), 55 (54), 41 (90), 39 (32)

$[\alpha]_D^{22} = +8.4$  (*c* = 4.3, Diethylether)

ee = 100.0 % (gaschromatographisch, s. **Tabelle 9-3**)

#### 7.5.4 (S)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (82)

##### 7.5.4.1 (S)-Citronellyltosylat (80)<sup>[52]</sup>



Unter Eiskühlung werden zu einer Lösung von 1.09 g (7.0 mmol) (S)-(-)-Citronellol (**79**) in 5 mL abs. Pyridin 1.59 g (8.4 mmol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid zugegeben und es wird 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Gemisch in Eiswasser gegossen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Kupfer(II)sulfat-Lösung, Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung,

Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

Das Rohprodukt wurde ohne Reinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute: 1.57 g (5.06 mmol; 72.2 %)

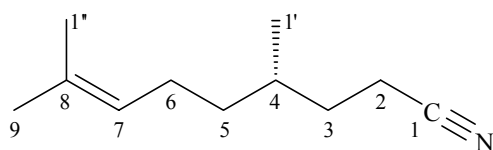
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.79 (dt,  $^3J = 8.4$  Hz,  $^4J = 1.9$  Hz, 2 H, Ar), 7.34 (d,  $^3J = 8.5$  Hz, 2 H, Ar), 5.02 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-6), 4.11 – 4.02 (m, 2 H, H-1), 2.45 (s, 3 H, H-1'''), 2.04 – 1.05 (m, 7 H, H-2, H-3, H-4, H-5), 1.67 (d,  $^4J = 1.3$  Hz, 3 H, H-8), 1.57 (d,  $^4J = 0.4$  Hz, 3 H, H-1''), 0.82 (d,  $^3J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 144.6 (s, C-4'''), 133.2 (s, Ar), 131.4 (s, Ar), 129.8 (2 x d, Ar), 127.8 (2 x d, Ar), 124.3 (d, C-6), 69.0 (t, C-1), 36.7 (t), 35.6 (t), 28.8 (d, C-3), 25.7 (q, C-8), 25.2 (t), 21.6 (q, C-1'''), 19.0 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 173 (10), 155 (18), 138 (54), 123 (75), 109 (46), 95 (92), 91 (95), 82 (81), 81 (100), 69 (69), 68 (39), 67 (61), 65 (36), 55 (44), 41 (89), 39 (20)

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +175.4$  ( $c = 2.6$ , Diethylether)

#### 7.5.4.2 (*S*)-Citronellylcyanid (81)<sup>[52]</sup>



Es werden 1.24 g (4.0 mmol) (*S*)-Citronellyltosylat (**80**) in 3.5 mL DMSO gelöst und zu dieser Lösung 0.27 g (5.5 mmol) Natriumcyanid zugegeben. Das Gemisch wird 5 Stunden bei 65 °C und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, anschließend in Eiswasser gegeben und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 40:1 verwendet.

Ausbeute: 587 mg (3.55 mmol; 88.8 %)

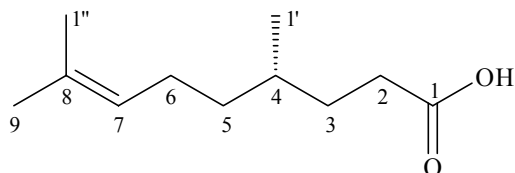
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.08 (tquin, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1 H, H-7), 2.41 – 2.27 (m, 2 H, H-2), 2.07 – 1.91 (m, 2 H, H-6), 1.75 – 1.64 (m, 1 H, H-3), 1.63 – 1.54 (m, 1 H, H-4), 1.53 – 1.43 (m, 1 H, H-3), 1.39 – 1.14 (m, 2 H, H-5), 1.69 (d, <sup>4</sup>*J* = 1.2 Hz, 3 H, H-9), 1.61 (d, <sup>4</sup>*J* = 0.3 Hz, 3 H, H-1''), 0.92 (d, <sup>3</sup>*J* = 6.6 Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 131.6 (s, C-8), 124.1 (d, C-7), 119.9 (s, C-1), 36.2 (t, C-5), 32.2 (t, C-3), 31.5 (d, C-4), 25.6 (q, C-9), 25.2 (t, C-6), 18.6 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1''), 14.8 (t, C-2)

**EI-MS (70 eV):** *m/z* (%) = 165 (8, M<sup>+</sup>), 150 (47), 136 (10), 122 (33), 108 (35), 94 (8), 83 (11), 69 (100), 55 (53), 41 (81), 39 (24)

$[\alpha]_D^{22} = -5.2$  (*c* = 2.6, Diethylether)

#### 7.5.4.3 (*S*)-4,8-Dimethyl-7-nonensäure (82)<sup>[52]</sup>



Eine Lösung von 413 mg (2.5 mmol) (*S*)-Citronellylcyanid (**81**) und 1.98 g (49.6 mmol) Natriumhydroxid in 6.5 mL 60 %igem Ethanol wird 48 Stunden unter Rückfluss gerührt. Dann wird das Ethanol im Vakuum entfernt, und der Rückstand wird mit Wasser verdünnt, mit konzentrierter Salzsäure angesäuert und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

Ausbeute: 435 mg (2.36 mmol; 94.3 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 10.77 (br s, 1 H, OH), 5.08 (tquin, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1 H, H-7), 2.43 – 2.28 (m, 2 H, H-2), 2.06 – 1.90 (m, 2 H, H-6), 1.75 – 1.64 (m, 1 H, H-3), 1.68 (d, *J* = 1.1 Hz, 3 H, H-9), 1.60 (d, *J* = 0.4 Hz, 3 H, H-1''), 1.52 – 1.40 (m, 2 H, H-3, H-4), 1.38 – 1.12 (m, 2 H, H-5), 0.90 (d, *J* = 6.4 Hz, 3 H, H-1')

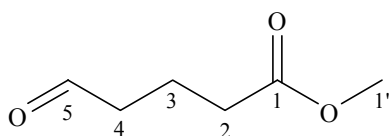
**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 180.7 (s, C-1), 131.3 (s, C-8), 124.6 (d, C-7), 36.7 (t, C-5), 32.0 (d, C-4), 31.9 (t, C-2), 31.5 (t, C-3), 25.7 (q, C-9), 25.4 (t, C-6), 19.1 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +0.7$  ( $c = 2.6$ , Diethylether)

ee > 80 % (keine Grundlinientrennung bei der chiralen Gaschromatographie; s. **Tabelle 9-3**)

### 7.5.5 (S)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (97)

#### 7.5.5.1 5-Oxopentansäuremethylester (85)<sup>[53, 54]</sup>



Zu einer Lösung von 5.00 g (50 mmol)  $\delta$ -Valerolacton (**83**) in 100 mL frisch destilliertem Methanol werden unter Rühren 5 Tropfen konz. Schwefelsäure gegeben und das Gemisch anschließend 5 Stunden unter Rückfluss gerührt. Das Reaktionsgemisch wird dann in einem Eis-Kochsalz-Bad abgekühlt und mit 0.50 g (6 mmol) Natriumhydrogencarbonat versetzt. Nach 10minütigem Rühren wird der überschüssige Feststoff durch Filtration abgetrennt und das Lösungsmittel im Vakuum bei 25 °C entfernt. Das Produkt wird ohne Reinigung oxidiert, da leicht eine Relactonisierung auftreten kann.

Zu einer Suspension von 10.28 g (47.7 mmol) Pyridiniumchlorochromat in 60 mL abs. Dichlormethan wird unter Rühren eine Lösung von 6.61 g (50 mmol) 5-Hydroxypentansäuremethylester (**84**) in 30 mL abs. Dichlormethan in einer Portion zugegeben. Das Gemisch wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, dann werden 100 mL abs. Diethylether zugegeben. Die Lösung wird abdekantiert und der Rückstand mit 3  $\times$  25 mL Diethylether gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden durch Kieselgel filtriert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 2:1 verwendet.

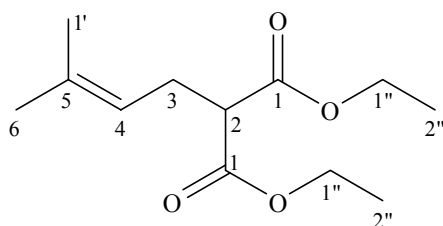
Ausbeute: 3.16 g (24.26 mmol; 48.5 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 9.78 (t,  $J = 1.3$  Hz, 1 H, H-5), 3.68 (s, 3 H, H-1'), 2.54 (td,  $J = 7.2$  Hz,  $J = 1.3$  Hz, 2 H, H-4), 2.39 (t,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, H-2), 1.96 (quin,  $J = 7.1$  Hz, 2 H, H-3)

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 201.4 (d, C-5), 173.3 (s, C-1), 51.5 (q, C-1'), 42.8 (t, C-4), 32.8 (t, C-2), 17.2 (t, C-3)

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 102 (15), 99 (33), 98 (29), 87 (8), 74 (100), 71 (38), 59 (44), 55 (38), 43 (79), 42 (53), 41 (43), 39 (32)

#### 7.5.5.2 2-Ethoxycarbonyl-5-methyl-4-hexensäureethylester (87)<sup>[29]</sup>



Bei 0 °C werden 7.21 g (45 mmol) Malonsäurediethylester mit 1.49 g (49.5 mmol) Natriumhydrid (80%ige Suspension in Mineralöl) und 50 mL abs. THF versetzt und 1 Stunde gerührt. Anschließend werden 6.71 g (45 mmol) 1-Brom-3-methyl-2-buten (**86**) zugegeben, und es wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit Wasser versetzt und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

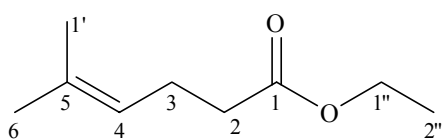
Ausbeute: 8.85 g (38.60 mmol; 85.8 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.07 (tquin,  $^3J = 7.3$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-4), 4.19 (q,  $^3J = 7.1$  Hz, 4 H, H-1''), 3.33 (t,  $^3J = 7.7$  Hz, 1 H, H-2), 2.59 (t,  $^3J = 7.5$  Hz, 2 H, H-3), 1.68 (d,  $^4J = 1.1$  Hz, 3 H, H-6), 1.63 (d,  $^4J = 0.7$  Hz, 3 H, H-1'), 1.26 (t,  $^3J = 7.1$  Hz, 6 H, H-2'')

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 169.2 (s, C-1), 134.7 (s, C-5), 119.7 (d, C-4), 61.2 (t, C-1''), 52.2 (d, C-2), 27.5 (t, C-3), 25.7 (q, C-6), 17.7 (q, C-1'), 14.0 (q, C-2'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 228 (20,  $\text{M}^+$ ), 183 (6), 182 (5), 173 (5), 160 (52), 154 (34), 139 (56), 133 (14), 115 (38), 111 (33), 109 (41), 95 (11), 86 (8), 81 (100), 69 (53), 67 (19), 55 (14), 53 (13), 41 (38), 39 (14)

### 7.5.5.3 5-Methyl-4-hexensäureethylester (88)<sup>[29]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.1 durchgeführt. Es werden 8.03 g (35.0 mmol) 2-Ethoxycarbonyl-5-methyl-4-hexensäureethylester (**87**), 4.45 g (105.0 mmol) Lithiumchlorid, 0.63 mL (35.0 mmol) Wasser und 60 mL DMSO eingesetzt.

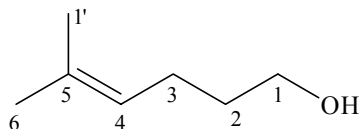
Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 30:1 verwendet.

Ausbeute: 2.79 g (17.86 mmol; 51.0 %)

**$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.12 – 5.07 (m, 1 H, H-4), 4.13 (q,  $^3J = 7.1$  Hz, 2 H, H-1''), 2.34 – 2.28 (m, 4 H, H-2, H-3), 1.68 (s, 3 H, H-6), 1.62 (d,  $J = 0.8$  Hz, 3 H, H-1'), 1.25 (t,  $^3J = 7.1$  Hz, 3 H, H-2'')

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 173.4 (s, C-1), 132.9 (s, C-5), 122.4 (d, C-4), 60.2 (t, C-1''), 34.5 (t, C-2), 25.6 (q, C-6), 23.6 (t, C-3), 17.6 (q, C-1'), 14.2 (q, C-2'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 156 (50,  $\text{M}^+$ ), 127 (5), 111 (22), 101 (9), 95 (6), 88 (19), 85 (62), 82 (100), 69 (86), 67 (46), 60 (18), 55 (36), 53 (17), 41 (69), 39 (32)

**7.5.5.4 5-Methyl-4-hexen-1-ol (89)<sup>[29, 55]</sup>**

Zur Reduktion werden 0.35 g (9.3 mmol) Lithiumaluminiumhydrid in 17 mL abs. Diethylether vorgelegt und unter ständigem Rühren 2.64 g (16.9 mmol) 5-Methyl-4-hexensäureethylester (**88**) in 7 mL abs. Diethylether so zugetropft, dass der Ether mäßig siedet. Anschließend wird 1 Stunde unter Rückfluss gerührt. Dann werden weitere 0.10 g (2.64 mmol) Lithiumaluminiumhydrid zugegeben und es wird noch 1 Stunde unter Rückfluss gerührt. Danach wird das Reaktionsgemisch in Eiswasser abgekühlt und tropfenweise so lange mit Eiswasser versetzt, wie noch Wasserstoff entsteht, danach noch mit so viel 10 %iger Schwefelsäure, dass sich der gebildete Aluminiumhydroxid-Niederschlag gerade auflöst. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase noch dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

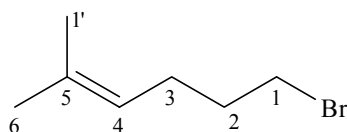
Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 1.69 g (14.80 mmol; 87.6 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.13 (tquin,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-4), 3.63 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2 H, H-1), 2.06 (q,  $J = 7.3$  Hz, 2 H, H-3), 1.75 (br s, 1 H, OH), 1.69 (d,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, H-6), 1.64 – 1.57 (m, 2 H, H-2), 1.62 (s, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 132.1 (s, C-5), 123.8 (d, C-4), 62.6 (t, C-1), 32.7 (t, C-2), 25.6 (q, C-6), 24.3 (t, C-3), 17.6 (q, C-1')



7.5.5.5 1-Brom-5-methyl-4-hexen (90)<sup>[56]</sup>

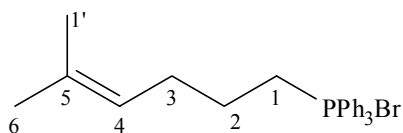
Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.8 durchgeführt. Es werden 7.08 g (27.0 mmol) Triphenylphosphin, 4.31 g (27.0 mmol) Brom und 1.54 g (13.5 mmol) 5-Methyl-4-hexen-1-ol (**89**) eingesetzt.

Die genaue Ausbeute der Reaktion wurde nicht bestimmt, da das Bromid leicht flüchtig ist.

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.07 (tquin,  $^3J = 7.3$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-4), 3.40 (t,  $J = 6.7$  Hz, 2 H, H-1), 2.17 – 2.11 (m, 2 H, H-3), 1.92 – 1.85 (m, 2 H, H-2), 1.70 (d,  $J = 1.2$  Hz, 3 H, H-6), 1.63 (d,  $J = 0.7$  Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 133.2 (s, C-5), 122.5 (d, C-4), 33.6 (t), 32.9 (t), 26.5 (t, C-3), 25.7 (q, C-6), 17.8 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 178 (16,  $M^+$  mit  $^{81}\text{Br}$ ), 176 (17,  $M^+$  mit  $^{79}\text{Br}$ ), 97 (37), 81 (17), 69 (100), 55 (27), 53 (15), 41 (68), 39 (25)

7.5.5.6 (5-Methyl-4-hexenyl)-triphenylphosphoniumbromid (91)<sup>[42, 57]</sup>

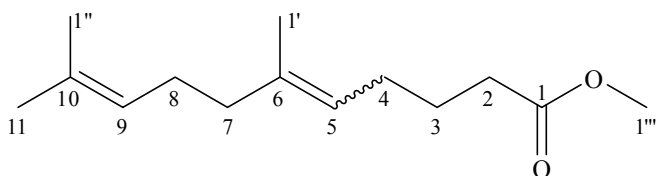
Eine Mischung aus 2.39 g (13.5 mmol) 1-Brom-5-methyl-4-hexen (**90**) und 3.54 g (13.5 mmol) Triphenylphosphin wird 6 Stunden unter Rückfluss gerührt. Das abgekühlte Reaktionsprodukt wird in wenig Dichlormethan gelöst und zweimal säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Dichlormethan und Methanol im Volumenverhältnis 19:1 verwendet.

Ausbeute: 3.61 g (8.22 mmol; 60.9 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 7.87 – 7.70 (m, 15 H, Ar), 5.01 (tquin,  $^3J = 7.2$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-4), 3.71 – 3.64 (m, 2 H, H-1), 2.35 – 2.30 (m, 2 H, H-3), 1.83 – 1.60 (m, 2 H, H-2), 1.66 (d,  $J = 1.0$  Hz, 3 H, H-6), 1.57 (d,  $J = 0.7$  Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)<sup>[118]</sup>:**  $\delta$  [ppm] = 135.0 / 134.9 (d,  $^4J_{P-C} = 3.0$  Hz, C-4''), 134.2 (s, C-5), 133.5 / 133.4 (d,  $^2J_{P-C} = 9.9$  Hz, C-2'', C-6''), 130.5 / 130.3 (d,  $^3J_{P-C} = 12.5$  Hz, C-3'', C-5''), 121.9 (d, C-4), 118.5 / 117.6 (s,  $^1J_{P-C} = 86.0$  Hz, C-1''), 28.4 / 28.3 (t,  $^3J_{P-C} = 16.1$  Hz, C-3), 25.6 (q, C-6), 22.63 / 22.58 (t,  $^2J_{P-C} = 4.4$  Hz, C-2), 22.3 / 21.8 (t,  $^1J_{P-C} = 50.5$  Hz, C-1), 17.9 (q, C-1')

#### 7.5.5.7 6,10-Dimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (92)<sup>[58]</sup>



Zu einer Lösung von 3.30 g (7.50 mmol) (5-Methyl-4-hexenyl)-triphenylphosphoniumbromid (**91**) in 27 mL einer Mischung aus abs. THF und abs. Diethylether im Volumenverhältnis 2:1 werden 4.7 mL (7.84 mmol) einer 1.6 M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan zugetropft und so lange gerührt (etwa 2 Stunden), bis eine klare rote Lösung entstanden ist. Dann werden 1.21 g (8.51 mmol) Methyljodid über 10 Minuten zugetropft, wobei sich das Gemisch leicht erwärmt. Danach wird noch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es entsteht ein weißer Niederschlag mit einer leicht gelben überstehenden Lösung. Anschließend werden erneut 4.9 mL (7.84 mmol) einer 1.6 M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan zugetropft, und es wird bis zur vollständigen Auflösung des Niederschlages gerührt (etwa 1.5 Stunden). Zu der tiefroten Lösung werden 0.98 g (7.50 mmol) 5-Oxopentansäuremethylester zugetropft, und es wird 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es entsteht ein weißer Niederschlag mit einer schwach gelben überstehenden Lösung. Das Reaktionsgemisch wird in Wasser gegossen und mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 19:1 verwendet.

Das Produkt besteht aus einem Gemisch der *E*- und *Z*-Isomere.

Ausbeute: 0.69 g (3.08 mmol; 41.0 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 5.13 – 5.06 (m, 2 H, H-5, H-9), 3.67 (s) / 3.66 (s) (3 H, H-1'''), 2.30 (t, *J* = 7.6 Hz, 2 H, H-2), 2.10 – 1.95 (m, 6 H, H-4, H-7, H-8), 1.72 – 1.58 (m, 11 H, H-3, H-11, H-1', H-1'')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 174.3 / 174.2 (s, C-1), 136.2 / 136.1 (s, C-6), 131.6 / 131.4 (s, C-10), 124.25 (d), 124.22 (d), 124.15 (d), 123.3 (d), 51.4 (q, C-1'''), 39.7 (t, C-7 (*E*)), 33.6 (t), 33.4 (t), 31.9 (t, C-7 (*Z*)), 27.2 (t), 27.1 (t), 26.6 (t), 26.5 (t), 25.66 / 25.65 (q, C-11), 25.2 (t), 25.0 (t), 23.4 (q, C-1' (*Z*)), 17.7 / 17.6 (q, C-1''), 15.9 (q, C-1' (*E*))

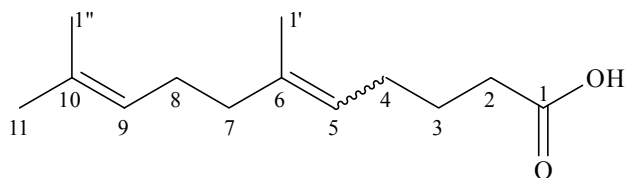
**(*Z*)-Isomer:**

**EI-MS (70 eV):** *m/z* (%) = 224 (6, M<sup>+</sup>), 209 (2), 181 (33), 168 (2), 149 (12), 135 (3), 123 (24), 109 (26), 95 (63), 82 (26), 81 (30), 69 (100), 55 (18), 53 (16), 41 (64)

**(*E*)-Isomer:**

**EI-MS (70 eV):** *m/z* (%) = 224 (2, M<sup>+</sup>), 209 (1), 181 (53), 168 (1), 149 (19), 135 (4), 123 (40), 109 (22), 95 (100), 82 (23), 81 (42), 69 (98), 55 (22), 53 (19), 41 (74)

#### 7.5.5.8 6,10-Dimethyl-5,9-undecadiensäure (93)<sup>[55]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.7 durchgeführt. Es werden 0.56 g (2.5 mmol) 6,10-Dimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**92**) eingesetzt.

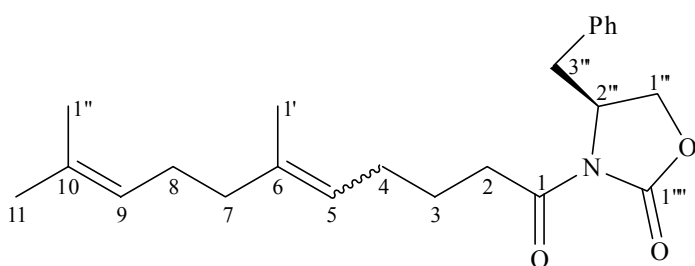
Das Produkt besteht aus einem Gemisch der *E*- und *Z*-Isomere.

Ausbeute: 0.47 g (2.23 mmol; 89.0 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.13 – 5.06 (m, 2 H, H-5, H-9), 2.34 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 2 H, H-2), 2.10 – 1.95 (m, 6 H, H-4, H-7, H-8), 1.72 – 1.59 (m, 11 H, H-3, H-11, H-1', H-1'')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 180.24 / 180.17 (s, C-1), 136.44 / 136.36 (s, C-6), 131.6 / 131.4 (s, C-10), 124.3 (d), 124.2 (d), 124.0 (d), 123.2 (d), 39.7 (t, C-7 (*E*)), 33.6 (t), 33.4 (t), 31.9 (t, C-7 (*Z*)), 27.11 (t), 27.06 (t), 26.62 (t), 26.55 (t), 25.7 (q, C-11), 25.0 (t), 24.7 (t), 23.4 (q, C-1' (*Z*)), 17.7 / 17.6 (q, C-1''), 16.0 (q, C-1' (*E*))

#### 7.5.5.9 (*S*)-*N*-(6,10-Dimethyl-5,9-undecadienoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (94)<sup>[59]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.1 durchgeführt. Es werden 345 mg (1.64 mmol) 6,10-Dimethyl-5,9-undecadiensäure (**93**), 199 mg (1.97 mmol) Triethylamin, 238 mg (1.97 mmol) Pivaloylchlorid, 1.23 mL (1.97 mmol) einer 1.6 M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan und 349 mg (1.97 mmol) (*S*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 534 mg (1.44 mmol; 88.1 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.19 (m, 5 H, Ar), 5.17 – 5.07 (m, 2 H, H-5, H-9), 4.70 – 4.64 (m, 1 H, H-2'''), 4.22 – 4.13 (m, 2 H, H-1'''), 3.30 (dd,  $J$  = 13.3 Hz,  $J$  = 3.3 Hz, 1 H, H-3'''), 3.01 – 2.86 (m, 2 H, H-2), 2.80 – 2.72 (m, 1 H, H-3'''), 2.12 – 1.96 (m, 6 H, H-4, H-7, H-8), 1.80 – 1.45 (m, 11 H, H-3, H-11, H-1', H-1'')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.4 / 173.3 (s, C-1), 153.4 (s, C-1'''), 136.24 / 136.17 (s, C-6), 135.3 (s, Ar), 131.6 / 131.3 (s, C-10), 129.4 (2 x d, Ar), 128.9 (2 x d, Ar), 127.3 (d, Ar), 124.3 (d), 124.25 (d), 124.23 (d), 123.4 (d), 66.1 (t, C-1'''), 55.1 (d, C-2'''), 39.7 (t, C-7 (*E*)), 37.9 (t, C-3'''), 35.1 (t), 35.0 (t), 32.0 (t, C-7 (*Z*)), 27.2 (t), 27.1 (t),

26.7 (t), 26.6 (t), 25.7 (q, C-11), 24.5 (t), 24.4 (t), 23.4 (q, C-1'(Z)), 17.7 / 17.6 (q, C-1''), 16.0 (q, C-1' (E))

**(Z)-Isomer:**

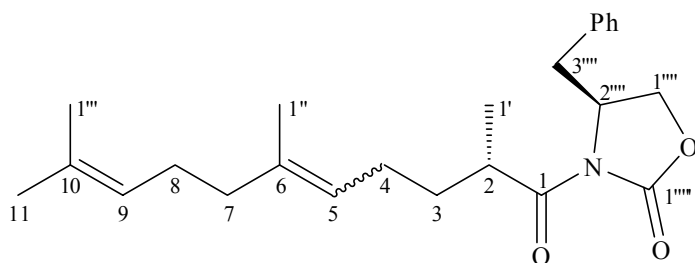
**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 369 (4,  $M^+$ ), 326 (12), 308 (6), 232 (23), 219 (15), 192 (16), 178 (92), 160 (5), 149 (71), 134 (32), 128 (10), 123 (28), 117 (60), 109 (41), 95 (25), 91 (53), 81 (29), 69 (100), 55 (30), 41 (78)

**(E)-Isomer:**

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 369 (3,  $M^+$ ), 326 (12), 308 (6), 232 (24), 219 (12), 192 (12), 178 (100), 160 (4), 149 (82), 134 (28), 128 (9), 123 (36), 117 (68), 109 (37), 95 (30), 91 (53), 81 (30), 69 (92), 55 (29), 41 (71)

$[\alpha]_D^{22} = +43.8$  ( $c = 3.3$ , Diethylether)

**7.5.5.10 (2*S*,2''''*S*)-*N*-(2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadienoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (95)<sup>[59]</sup>**



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.2 durchgeführt. Es werden 388 mg (1.05 mmol) (*S*)-*N*-(6,10-Dimethyl-5,9-undecadienoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (**94**), 1.15 mL (1.15 mmol) einer 1 M Lösung von NHMDS in Tetrahydrofuran und 744 mg (5.24 mmol) Methyljodid eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 2:1 verwendet.

Ausbeute: 322 mg (0.84 mmol; 80.1 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.20 (m, 5 H, Ar), 5.13 – 5.06 (m, 2 H, H-5, H-9), 4.70 – 4.63 (m, 1 H, H-2'''''), 4.36 – 4.13 (m, 2 H, H-1'''''), 3.76 – 3.67 (m, 1 H, H-2), 3.26 (dd,  $J = 13.3$  Hz,  $J = 3.3$  Hz, 1 H, H-3'''''), 2.77 (dd,  $J = 13.3$  Hz,  $J = 9.6$  Hz, 1 H, H-3'''''), 2.08 – 1.93 (m, 6 H, H-4, H-7, H-8), 1.87 – 1.39 (m, 11 H, H-3, H-11, H-1', H-1''), 1.232 (d,  $J = 6.8$  Hz) / 1.227 (d,  $J = 6.9$  Hz) (3 H, H-1')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.2 / 177.1 (s, C-1), 153.0 (s, C-1'''''), 135.8 / 135.7 (s, C-6), 135.3 (s, Ar), 131.6 / 131.3 (s, C-10), 129.4 (2 x d, Ar), 128.9 (2 x d, Ar), 127.3 (d, Ar), 124.4 (d), 124.3 (d), 124.2 (d), 123.5 (d), 66.0 (t, C-1'''''), 55.3 (d, C-2'''), 39.7 (t, C-7 (*E*)), 37.9 (t, C-3'''''), 37.4 / 37.3 (d, C-2), 33.6 (t), 33.3 (t), 31.9 (t, C-7 (*Z*)), 26.7 (t), 26.6 (t), 25.68 (q, C-11), 25.66 (t), 25.5 (t), 23.4 (q, C-1'' (*Z*)), 17.7 / 17.6 (q, C-1'''), 17.4 (q, C-1'), 15.9 (q, C-1'' (*E*))

**(*Z*)-Isomer:**

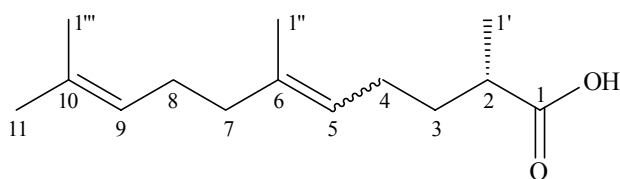
**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 383 (2,  $\text{M}^+$ ), 340 (15), 246 (5), 233 (76), 206 (9), 178 (47), 163 (35), 142 (14), 137 (19), 134 (46), 123 (10), 117 (39), 109 (54), 91 (49), 81 (25), 69 (100), 67 (36), 55 (20), 41 (77)

**(*E*)-Isomer:**

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 383 (2,  $\text{M}^+$ ), 340 (16), 246 (5), 233 (67), 206 (7), 178 (56), 163 (46), 142 (14), 137 (25), 134 (45), 123 (11), 117 (42), 109 (58), 91 (50), 81 (25), 69 (100), 67 (39), 55 (21), 41 (79)

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +83.4$  ( $c = 1.9$ , Diethylether)

**7.5.5.11 (*S*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (96)<sup>[59]</sup>**



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.3 durchgeführt. Es werden 242 mg (0.63 mmol) (2*S*,2''''*S*)-*N*-(2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadienoyl)-4-benzyl-2-oxazoli-

dinon (**95**) und 3.00 mL (3.00 mmol) einer 1 M Lösung von Kaliumhydroxid in Wasser eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

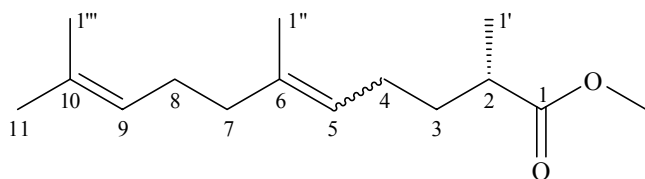
Ausbeute: 30 mg (0.14 mmol; 21.5 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.13 – 5.06 (m, 2 H, H-5, H-9), 2.52 – 2.43 (m, 1 H, H-2), 2.09 – 1.95 (m, 6 H, H-4, H-7, H-8), 1.80 – 1.68 (m, 6 H, H-11, H-1'''), 1.61 – 1.40 (m, 5 H, H-3, H-1''), 1.186 (d,  $J$  = 7.0 Hz) / 1.183 (d,  $J$  = 7.0 Hz) (3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 183.33 / 183.26 (s, C-1), 136.1 (s), 136.0 (s), 131.6 (s), 131.4 (s), 124.28 (d), 124.22 (d), 124.16 (d), 123.3 (d), 39.7 (t, C-7 (E)), 38.9 / 38.8 (d, C-2), 33.8 (t), 33.5 (t), 31.9 (t, C-7 (Z)), 26.62 (t), 26.56 (t), 25.69 (q), 25.67 (q), 25.5 (t), 25.4 (t), 23.4 (q, C-1'' (Z)), 17.7 (q), 17.6 (q), 16.83 (q), 16.81 (q), 16.0 (q, C-1'' (E))

$[\alpha]_D^{22} = +20.7$  (c = 2.1, Diethylether)

#### 7.5.5.12 (*S*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester (**97**)<sup>[30]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.2 durchgeführt. Es werden 30 mg (0.13 mmol) (*S*)-2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure (**96**) eingesetzt.

Eine Reinigung des Produkts war nicht nötig.

Ausbeute: 24 mg (0.10 mmol; 77.1 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.12 – 5.06 (m, 2 H, H-5, H-9), 3.67 (s) / 3.66 (s) (3 H, H-1'''), 2.50 – 2.41 (m, 1 H, H-2), 2.09 – 1.96 (m, 6 H, H-4, H-7, H-8), 1.77 – 1.66 (m, 1 H, H-3), 1.684 – 1.678 (m, 4 H, H-11, H-1'' (Z)), 1.61 – 1.60 (m, 3 H, H-1''),

1.585 – 1.577 (m, 2 H, H-1'' (*E*)), 1.48 – 1.37 (m, 1 H, H-3), 1.150 (d,  $J = 7.0$  Hz) / 1.147 (d,  $J = 7.0$  Hz) (3 H, H-1')

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.3 / 177.2 (s, C-1), 135.9 (s), 135.8 (s), 131.6 (s), 131.4 (s), 124.31 (d), 124.29 (d), 124.27 (d), 123.5 (d), 51.4 (q, C-1'''), 39.7 (t, C-7 (*E*)), 39.0 / 38.9 (d, C-2), 34.1 (t), 33.8 (t), 31.9 (t, C-7 (*Z*)), 26.65 (t), 26.57 (t), 25.69 / 25.67 (q, C-11), 25.56 (t), 25.47 (t), 23.4 (q, C-1'' (*Z*)), 17.7 (q), 17.6 (q), 17.1 (q), 17.0 (q), 15.9 (q, C-1'' (*E*))

**(*Z*)-Isomer:**

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 238 (6,  $\text{M}^+$ ), 223 (2), 206 (2), 195 (45), 182 (2), 169 (3), 163 (20), 151 (4), 137 (11), 123 (16), 109 (100), 95 (19), 88 (36), 81 (31), 69 (95), 67 (36), 55 (19), 53 (17), 41 (66)

**(*E*)-Isomer:**

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 238 (2,  $\text{M}^+$ ), 223 (1), 206 (1), 195 (56), 182 (1), 169 (4), 163 (26), 151 (3), 137 (14), 123 (17), 109 (100), 95 (16), 88 (27), 81 (30), 69 (81), 67 (36), 55 (17), 53 (16), 41 (60)

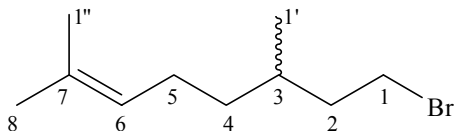
$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +38.2$  ( $c = 1.4$ , Diethylether)

**ee (*E*-Isomer) > 70 %** (keine Grundlinientrennung bei der chiralen Gaschromatographie; s. **Tabelle 9-3**)



### 7.5.6 (2*S*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (111)

#### 7.5.6.1 Citronellylbromid (99)<sup>[56]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.8 durchgeführt. Es werden 15.74 g (60.0 mmol) Triphenylphosphin, 9.59 g (60.0 mmol) Brom und 4.69 g (30.0 mmol) Citronellol (**98**) eingesetzt.

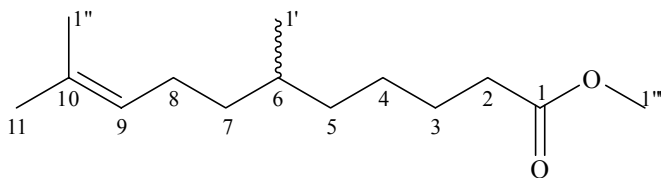
Ausbeute: 4.06 g (18.53 mmol; 61.8 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-6), 3.51 – 3.37 (m, 2 H, H-1), 2.06 – 1.58 (m, 5 H, H-2, H-3, H-5), 1.69 (d,  $J = 1.3$  Hz, 3 H, H-8), 1.61 (d,  $J = 0.5$  Hz, 3 H, H-1''), 1.39 – 1.13 (m, 2 H, H-4), 0.90 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 131.5 (s, C-7), 124.4 (d, C-6), 40.0 (t), 36.6 (t), 32.1 (t), 31.4 (d, C-3), 25.7 (q, C-8), 25.3 (t, C-5), 18.8 (q, C-1'), 17.7 (q, C-1'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 220 (9, M<sup>+</sup> mit <sup>81</sup>Br), 218 (9, M<sup>+</sup> mit <sup>79</sup>Br), 164 (5), 162 (5), 150 (4), 148 (4), 139 (2), 123 (2), 111 (3), 97 (11), 83 (61), 69 (100), 55 (50), 41 (54)

#### 7.5.6.2 6,10-Dimethyl-9-undecensäuremethylester (101)<sup>[55, 60]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.10 durchgeführt. Es werden 457 mg (18.8 mmol) Magnesiumspäne, 3.94 g (18.0 mmol) Citronellylbromid (**99**), 3.67 g (30.0 mmol) DMAP, 92 mg (0.64 mmol) Kupfer(I)bromid, 40 mg (0.64 mmol) Dimethyl-

sulfid, 1.11 g (12.86 mmol) Acrylsäuremethylester und 1.69 g (15.6 mmol) Trimethylsilylchlorid eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 30:1 verwendet.

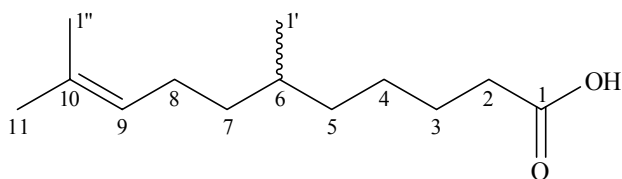
Ausbeute: 1.65 g (7.29 mmol; 56.7 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 3.66 (s, 3 H, H-1'''), 2.31 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, H-2), 2.02 – 1.89 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 1.1$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d,  $J = 0.5$  Hz, 3 H, H-1''), 1.44 – 1.06 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.86 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 174.3 (s, C-1), 131.0 (s, C-10), 124.9 (d, C-9), 51.4 (q, C-1'''), 37.0 (t), 36.5 (t), 34.1 (t, C-2), 32.2 (d, C-6), 26.6 (t), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 25.2 (t), 19.5 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 226 (28, M<sup>+</sup>), 194 (4), 177 (6), 156 (10), 152 (28), 137 (19), 124 (29), 111 (28), 110 (25), 109 (20), 97 (16), 96 (22), 95 (17), 87 (17), 83 (50), 82 (42), 69 (100), 59 (17), 55 (61), 41 (61)

### 7.5.6.3 6,10-Dimethyl-9-undecensäure (103)<sup>[55]</sup>



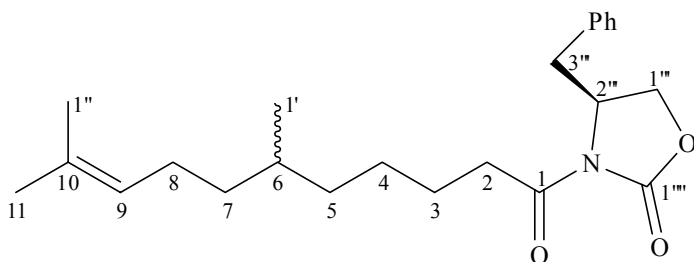
Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.7 durchgeführt. Es werden 1.20 g (5.3 mmol) 6,10-Dimethyl-9-undecensäuremethylester (**101**) eingesetzt.

Ausbeute: 1.06 g (4.99 mmol; 94.2 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 2.35 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, H-2), 2.05 – 1.88 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 1.0$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (s, 3 H, H-1''), 1.46 – 1.07 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.86 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1')

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 180.3 (s, C-1), 131.0 (s, C-10), 124.9 (d, C-9), 37.0 (t), 36.5 (t), 34.1 (t, C-2), 32.2 (d, C-6), 26.5 (t), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 25.0 (t), 19.5 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

#### 7.5.6.4 (*S*)-*N*-((6*RS*)-6,10-Dimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (105)<sup>[59]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.1 durchgeführt. Es werden 645 mg (3.04 mmol) 6,10-Dimethyl-9-undecensäure (**103**), 369 mg (3.65 mmol) Triethylamin, 440 mg (3.65 mmol) Pivaloylchlorid, 2.28 mL (3.65 mmol) einer 1.6 M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan und 647 mg (3.65 mmol) (*S*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 863 mg (2.32 mmol; 76.4 %)

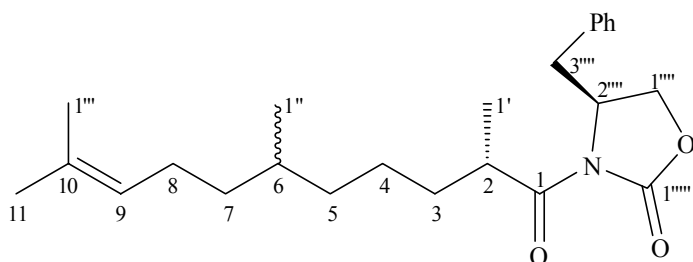
**$^1\text{H}$ -NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.19 (m, 5 H, Ar), 5.10 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 4.70 – 4.65 (m, 1 H, H-2''), 4.22 – 4.14 (m, 2 H, H-1''), 3.30 (dd,  $J = 13.4$  Hz,  $J = 3.3$  Hz, 1 H, H-3''), 3.02 – 2.85 (m, 2 H, H-2), 2.77 (dd,  $J = 13.4$  Hz,  $J = 9.6$  Hz, 1 H, H-3''), 2.04 – 1.89 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 1.1$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d,  $J = 0.3$  Hz, 3 H, H-1'), 1.47 – 1.09 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.87 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1')

**$^{13}\text{C}$ -NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 173.4 (s, C-1), 153.4 (s, C-1'''), 135.3 (s, C-4'''), 131.0 (s, C-10), 129.4 (2 x d, Ar), 128.9 (2 x d, Ar), 127.3 (d, Ar), 125.0 (d, C-9), 66.1 (t, C-1''), 55.1 (d, C-2'''), 37.9 (t, C-3'''), 37.1 (t), 36.7 (t), 35.5 (t), 32.3 (d, C-6), 26.6 (t), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 24.6 (t), 19.5 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 371 (8,  $M^+$ ), 258 (3), 245 (5), 232 (32), 219 (36), 195 (9), 178 (100), 152 (5), 134 (25), 117 (59), 109 (20), 95 (18), 91 (41), 83 (13), 82 (13), 81 (14), 69 (98), 55 (53), 41 (55)

$[\alpha]_D^{22} = +37.6$  ( $c = 1.7$ , Diethylether)

**7.5.6.5 (S)-N-((2S,6RS)-2,6,10-Trimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon**  
(108)<sup>[59]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.2 durchgeführt. Es werden 743 mg (2.00 mmol) (S)-N-((6RS)-6,10-Dimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (**105**), 2.19 mL (2.19 mmol) einer 1 M Lösung von NHMDS in Tetrahydrofuran und 1.42 g (9.98 mmol) Methyljodid eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 2:1 verwendet.

Ausbeute: 421 mg (1.09 mmol; 54.6 %)

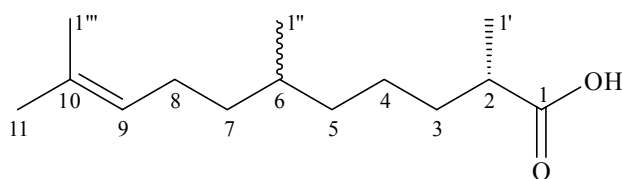
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.20 (m, 5 H, Ar), 5.09 (t,  $J = 7.1$  Hz, 1 H, H-9), 4.70 – 4.65 (m, 1 H, H-2'''), 4.22 – 4.14 (m, 2 H, H-1'''), 3.71 (sext,  $J = 6.8$  Hz, 1 H, H-2), 3.27 (dd,  $J = 13.3$  Hz,  $J = 3.3$  Hz, 1 H, H-3'''), 2.77 (dd,  $J = 13.3$  Hz,  $J = 9.6$  Hz, 1 H, H-3'''), 2.04 – 1.83 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 0.8$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d,  $J = 0.3$  Hz, 3 H, H-1''), 1.45 – 1.07 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 1.22 (d,  $J = 6.8$  Hz, 3 H, H-1'), 0.85 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3 H, H-1'')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 177.3 (s, C-1), 153.0 (s, C-1'''), 135.3 (s, C-4'''), 131.0 (s, C-10), 129.4 (2 x d, Ar), 128.9 (2 x d, Ar), 127.3 (d, Ar), 124.9 (d, C-9), 66.0 (t, C-1'''), 55.3 (d, C-2'''), 37.9 (t, C-3'''), 37.72 / 37.70 (d, C-2), 37.1 (t), 36.9 (t), 33.68 (t), 33.66 (t), 32.3 / 32.2 (d, C-6), 25.7 (q, C-11), 25.53 (t), 25.51 (t), 24.6 (t), 19.5 (q, C-1''), 17.6 (q, C-1'), 17.4 / 17.3 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 385 (1,  $M^+$ ), 246 (5), 233 (100), 209 (6), 191 (5), 178 (56), 165 (4), 151 (4), 142 (4), 134 (16), 117 (27), 109 (22), 97 (9), 95 (12), 91 (23), 83 (9), 82 (9), 81 (10), 69 (70), 55 (31), 41 (32)

$[\alpha]_D^{22} = +71.0$  ( $c = 2.2$ , Diethylether)

#### 7.5.6.6 (2*S*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (111)<sup>[59]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.3 durchgeführt. Es werden 347 mg (0.90 mmol) (*S*)-*N*-((2*S*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (**108**) und 4.29 mL (4.29 mmol) einer 1 M Lösung von Lithiumhydroxid in Wasser eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

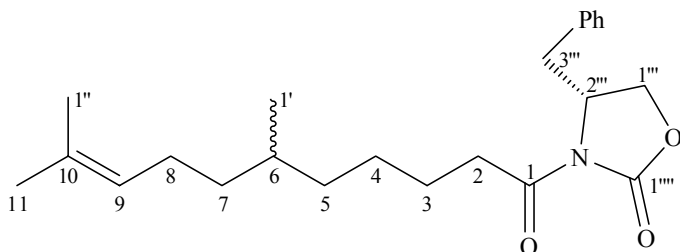
Ausbeute: 141 mg (0.62 mmol; 69.2 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 2.46 (sext,  $J = 6.9$  Hz, 1 H, H-2), 2.04 – 1.88 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 1.1$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (s, 3 H, H-1'''), 1.47 – 1.05 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 1.18 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, H-1'), 0.86 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1'')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 182.9 (s, C-1), 131.0 (s, C-10), 124.9 (d, C-9), 39.34 / 39.31 (d, C-2), 37.07 (t), 37.05 (t), 36.7 (t), 33.84 (t), 33.79 (t), 32.2 (d, C-6), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 24.6 (t), 24.5 (t), 19.5 (q, C-1''), 17.6 (q, C-1'''), 16.9 / 16.8 (q, C-1')

$[\alpha]_D^{22} = +33.1$  ( $c = 1.0$ , Diethylether)

ee (C-2) = 82.7 % (gaschromatographisch, s. **Tabelle 9-3**)

7.5.7 (2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (112)7.5.7.1 (*R*)-*N*-((6*RS*)-6,10-Dimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (106)<sup>[59]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.1 durchgeführt. Es werden 1.06 g (5.00 mmol) 6,10-Dimethyl-9-undecensäure (**103**), 0.61 g (6.00 mmol) Triethylamin, 0.72 g (6.00 mmol) Pivaloylchlorid, 3.75 mL (6.00 mmol) einer 1.6 M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan und 1.06 g (6.00 mmol) (*R*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 1.43 g (3.86 mmol; 77.2 %)

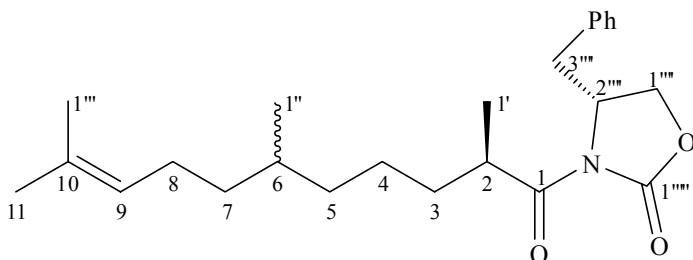
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.19 (m, 5 H, Ar), 5.10 (tquin, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1 H, H-9), 4.70 – 4.64 (m, 1 H, H-2'''), 4.21 – 4.14 (m, 2 H, H-1'''), 3.29 (dd, *J* = 13.4 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1 H, H-3'''), 3.02 – 2.85 (m, 2 H, H-2), 2.77 (dd, *J* = 13.4 Hz, *J* = 9.6 Hz, 1 H, H-3'''), 2.05 – 1.89 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d, *J* = 1.1 Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d, *J* = 0.4 Hz, 3 H, H-1''), 1.47 – 1.09 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.87 (d, *J* = 6.5 Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.4 (s, C-1), 153.4 (s, C-1'''''), 135.3 (s, C-4'''), 131.0 (s, C-10), 129.4 (2 x d, Ar), 128.9 (2 x d, Ar), 127.3 (d, Ar), 125.0 (d, C-9), 66.1 (t, C-1'''), 55.1 (d, C-2'''), 37.9 (t, C-3'''), 37.1 (t), 36.7 (t), 35.5 (t), 32.3 (d, C-6), 26.6 (t), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 24.6 (t), 19.5 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

**EI-MS (70 eV):** *m/z* (%) = 371 (10, M<sup>+</sup>), 258 (3), 245 (6), 232 (34), 219 (39), 195 (9), 178 (100), 152 (5), 134 (24), 117 (55), 109 (18), 95 (15), 91 (35), 83 (10), 82 (11), 81 (11), 69 (75), 55 (41), 41 (45)

**$[\alpha]_D^{22}$**  = –36.8 (*c* = 2.4, Diethylether)

**7.5.7.2 (*R*)-*N*-((2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon**  
(109)<sup>[59]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.2 durchgeführt. Es werden 1.19 g (3.20 mmol) (*R*)-*N*-((6*RS*)-6,10-Dimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (**106**), 3.50 mL (3.50 mmol) einer 1 M Lösung von NHMDS in Tetrahydrofuran und 2.27 g (15.97 mmol) Methyljodid eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 2:1 verwendet.

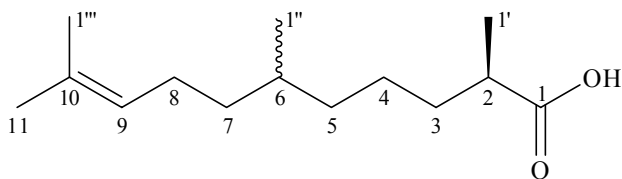
Ausbeute: 0.96 g (2.49 mmol; 77.8 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 7.35 – 7.20 (m, 5 H, Ar), 5.09 (t, *J* = 7.1 Hz, 1 H, H-9), 4.70 – 4.65 (m, 1 H, H-2'''), 4.21 – 4.14 (m, 2 H, H-1'''), 3.71 (sext, *J* = 6.8 Hz, 1 H, H-2), 3.27 (dd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1 H, H-3'''), 2.77 (dd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 9.6 Hz, 1 H, H-3'''), 2.03 – 1.83 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d, *J* = 0.8 Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d, *J* = 0.3 Hz, 3 H, H-1''), 1.45 – 1.05 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 1.22 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, H-1'), 0.85 (d, *J* = 6.6 Hz, 3 H, H-1'')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ [ppm] = 177.3 (s, C-1), 153.0 (s, C-1'''), 135.3 (s, C-4'''), 131.0 (s, C-10), 129.4 (2 x d, Ar), 128.9 (2 x d, Ar), 127.3 (d, Ar), 125.0 (d, C-9), 66.0 (t, C-1'''), 55.3 (d, C-2'''), 37.9 (t, C-3'''), 37.72 / 37.70 (d, C-2), 37.1 (t), 36.90 (t), 36.88 (t), 33.69 (t), 33.67 (t), 32.3 / 32.2 (d, C-6), 25.7 (q, C-11), 25.54 (t), 25.52 (t), 24.6 (t), 19.5 (q, C-1''), 17.6 (q, C-1'''), 17.4 / 17.3 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):** *m/z* (%) = 385 (2, M<sup>+</sup>), 246 (5), 233 (100), 209 (7), 191 (6), 178 (56), 165 (4), 151 (4), 142 (4), 134 (15), 117 (26), 109 (19), 97 (7), 95 (10), 91 (20), 83 (7), 82 (7), 81 (8), 69 (51), 55 (23), 41 (27)

**[α]<sub>D</sub><sup>22</sup>** = −73.7 (c = 2.8, Diethylether)

7.5.7.3 (2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (112)<sup>[59]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.3 durchgeführt. Es werden 0.81 g (2.10 mmol) (*R*)-*N*-((2*R*,6*RS*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (**109**) und 10.01 mL (10.01 mmol) einer 1 M Lösung von Lithiumhydroxid in Wasser eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 200 mg (0.88 mmol; 42.0 %)

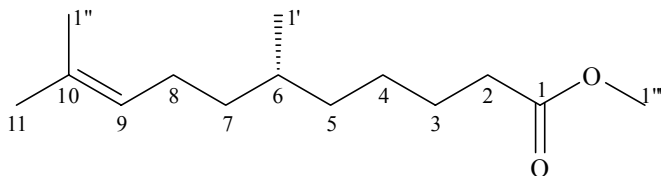
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 2.46 (sext,  $J = 6.9$  Hz, 1 H, H-2), 2.04 – 1.88 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 1.1$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d,  $J = 0.3$  Hz, 3 H, H-1'''), 1.47 – 1.06 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 1.18 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, H-1'), 0.86 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1'')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 183.0 (s, C-1), 131.1 (s, C-10), 125.0 (d, C-9), 39.4 / 39.3 (d, C-2), 37.08 (t), 37.07 (t), 36.8 (t), 33.84 (t), 33.80 (t), 32.3 (d, C-6), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 24.6 (t), 24.5 (t), 19.5 (q, C-1''), 17.6 (q, C-1'''), 16.9 / 16.8 (q, C-1')

$[\alpha]_D^{22} = -18.7$  ( $c = 4.6$ , Diethylether)

ee (C-2) = 94.3 % (gaschromatographisch, s. **Tabelle 9-3**)



7.5.8 (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (113)7.5.8.1 (*R*)-6,10-Dimethyl-9-undecensäuremethylester (102)<sup>[55, 60]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.10 durchgeführt. Es werden 457 mg (18.8 mmol) Magnesiumspäne, 3.94 g (18.0 mmol) (*S*)-Citronellylbromid (**100**), 3.67 g (30.0 mmol) DMAP, 92 mg (0.64 mmol) Kupfer(I)bromid, 40 mg (0.64 mmol) Dimethylsulfid, 1.11 g (12.86 mmol) Acrylsäuremethylester und 1.69 g (15.6 mmol) Trimethylsilylchlorid eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 30:1 verwendet.

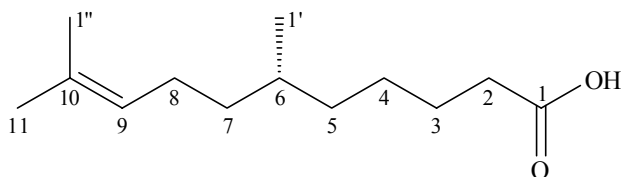
Ausbeute: 978 mg (4.32 mmol; 33.6 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 3.67 (s, 3 H, H-1'''), 2.31 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, H-2), 2.02 – 1.89 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 1.1$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d,  $J = 0.3$  Hz, 3 H, H-1''), 1.44 – 1.06 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.86 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 174.3 (s, C-1), 131.0 (s, C-10), 124.9 (d, C-9), 51.4 (q, C-1'''), 37.1 (t), 36.5 (t), 34.1 (t, C-2), 32.2 (d, C-6), 26.6 (t), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 25.3 (t), 19.5 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 226 (25, M<sup>+</sup>), 194 (4), 177 (6), 156 (10), 152 (27), 137 (19), 124 (28), 111 (27), 110 (24), 109 (19), 97 (16), 96 (21), 95 (17), 87 (16), 83 (49), 82 (41), 69 (100), 59 (18), 55 (64), 41 (71)

$[\alpha]_D^{22} = +10.0$  (c = 2.5, Diethylether)

7.5.8.2 (*R*)-6,10-Dimethyl-9-undecensäure (**104**)<sup>[55]</sup>

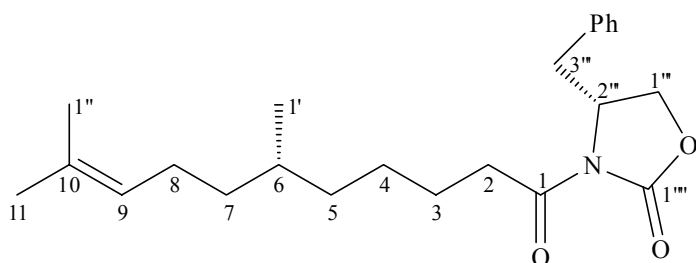
Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.7 durchgeführt. Es werden 0.90 g (3.98 mmol) (*R*)-6,10-Dimethyl-9-undecensäuremethylester (**102**) eingesetzt.

Ausbeute: 762 mg (3.59 mmol; 90.2 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 2.35 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, H-2), 2.04 – 1.88 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 1.1$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (s, 3 H, H-1''), 1.45 – 1.07 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.86 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 180.1 (s, C-1), 131.1 (s, C-10), 124.9 (d, C-9), 37.1 (t), 36.5 (t), 34.1 (t, C-2), 32.2 (d, C-6), 26.5 (t, C-4), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 25.0 (t), 19.5 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1'')

$[\alpha]_D^{22} = -3.3$  ( $c = 2.5$ , Diethylether)

7.5.8.3 (*R*)-*N*-((6*R*)-6,10-Dimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (**107**)<sup>[59]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.1 durchgeführt. Es werden 701 mg (3.30 mmol) (*R*)-6,10-Dimethyl-9-undecensäure (**104**), 401 mg (3.96 mmol) Triethylamin, 478 mg (3.96 mmol) Pivaloylchlorid, 2.48 mL (3.96 mmol) einer 1.6 M Lösung von *n*-Butyllithium in Hexan und 702 mg (3.96 mmol) (*R*)-4-Benzyl-2-oxazolidinon eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 1.15 g (3.10 mmol; 93.8 %)

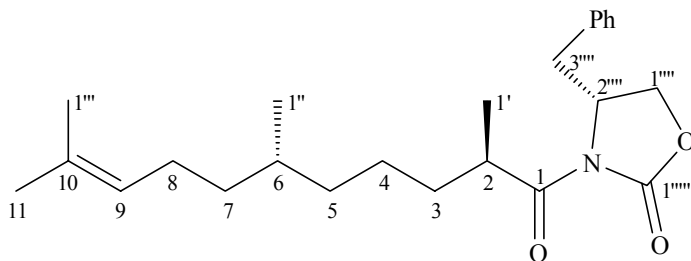
**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.19 (m, 5 H, Ar), 5.10 (tquin,  $^3J = 7.1$  Hz,  $^4J = 1.4$  Hz, 1 H, H-9), 4.70 – 4.64 (m, 1 H, H-2'''), 4.21 – 4.14 (m, 2 H, H-1'''), 3.29 (dd,  $J = 13.4$  Hz,  $J = 3.3$  Hz, 1 H, H-3'''), 3.02 – 2.86 (m, 2 H, H-2), 2.77 (dd,  $J = 13.4$  Hz,  $J = 9.6$  Hz, 1 H, H-3'''), 2.05 – 1.89 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d,  $J = 1.1$  Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d,  $J = 0.3$  Hz, 3 H, H-1'), 1.47 – 1.09 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 0.87 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3 H, H-1')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 173.4 (s, C-1), 153.4 (s, C-1'''), 135.3 (s, C-4'''), 131.0 (s, C-10), 129.4 (2 x d, Ar), 128.9 (2 x d, Ar), 127.3 (d, Ar), 125.0 (C-9), 66.1 (t, C-1'''), 55.1 (d, C-2'''), 37.9 (t, C-3'''), 37.1 (t), 36.7 (t), 35.5 (t), 32.3 (d, C-6), 26.6 (t), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 24.6 (t), 19.5 (q, C-1'), 17.6 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 371 (12,  $\text{M}^+$ ), 258 (3), 245 (6), 232 (35), 219 (39), 195 (9), 178 (100), 152 (4), 134 (22), 117 (51), 109 (17), 95 (13), 91 (34), 83 (10), 82 (10), 81 (10), 69 (71), 55 (38), 41 (43)

$[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -43.4$  ( $c = 2.2$ , Diethylether)

#### 7.5.8.4 (*R*)-*N*-((2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon (110)<sup>[59]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.2 durchgeführt. Es werden 1.00 g (2.70 mmol) (*R*)-*N*-((6*R*)-6,10-Dimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazolidinon

(107), 2.95 mL (2.95 mmol) einer 1 M Lösung von NHMDS in Tetrahydrofuran und 1.91 g (13.47 mmol) Methyljodid eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 2:1 verwendet.

Ausbeute: 800 mg (2.07 mmol; 76.9 %)

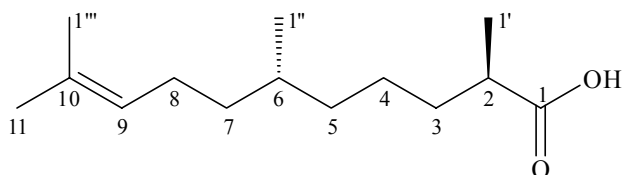
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 7.35 – 7.20 (m, 5 H, Ar), 5.09 (tquin, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1 H, H-9), 4.70 – 4.65 (m, 1 H, H-2'''), 4.21 – 4.14 (m, 2 H, H-1'''), 3.71 (sext, *J* = 6.8 Hz, 1 H, H-2), 3.27 (dd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 3.3 Hz, 1 H, H-3'''), 2.77 (dd, *J* = 13.3 Hz, *J* = 9.6 Hz, 1 H, H-3'''), 2.03 – 1.83 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d, *J* = 1.1 Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d, *J* = 0.4 Hz, 3 H, H-1'''), 1.45 – 1.05 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 1.22 (d, *J* = 6.8 Hz, 3 H, H-1'), 0.85 (d, *J* = 6.5 Hz, 3 H, H-1'')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 177.3 (s, C-1), 153.0 (s, C-1'''), 135.3 (s, C-4'''), 131.0 (s, C-10), 129.4 (2 x d, Ar), 128.9 (2 x d, Ar), 127.3 (d, Ar), 125.0 (d, C-9), 66.0 (t, C-1'''), 55.3 (d, C-2'''), 37.9 (t, C-3'''), 37.7 (d, C-2), 37.1 (t), 36.9 (t), 33.7 (t), 32.3 (d, C-6), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 24.6 (t), 19.5 (q, C-1''), 17.6 (q, C-1'''), 17.3 (q, C-1')

**EI-MS (70 eV):** *m/z* (%) = 385 (1, M<sup>+</sup>), 246 (5), 233 (100), 209 (6), 191 (5), 178 (54), 165 (4), 151 (4), 142 (4), 134 (14), 117 (25), 109 (19), 97 (7), 95 (9), 91 (20), 83 (7), 82 (7), 81 (8), 69 (51), 55 (23), 41 (27)

$[\alpha]_D^{22} = -70.6$  (c = 1.3, Diethylether)

#### 7.5.8.5 (2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (113)<sup>[59]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.9.3 durchgeführt. Es werden 694 mg (1.80 mmol) (*R*)-*N*-((2*R*,6*R*)-2,6,10-Trimethyl-9-undecenoyl)-4-benzyl-2-oxazoli-

dinon (**110**) und 8.58 mL (8.58 mmol) einer 1 M Lösung von Lithiumhydroxid in Wasser eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 254 mg (1.12 mmol; 62.3 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (tquin, <sup>3</sup>*J* = 7.1 Hz, <sup>4</sup>*J* = 1.4 Hz, 1 H, H-9), 2.46 (sext, *J* = 6.9 Hz, 1 H, H-2), 2.04 – 1.88 (m, 2 H, H-8), 1.68 (d, *J* = 1.1 Hz, 3 H, H-11), 1.60 (d, *J* = 0.4 Hz, 3 H, H-1''), 1.47 – 1.06 (m, 9 H, H-3, H-4, H-5, H-6, H-7), 1.18 (d, *J* = 7.0 Hz, 3 H, H-1'), 0.86 (d, *J* = 6.5 Hz, 3 H, H-1'')

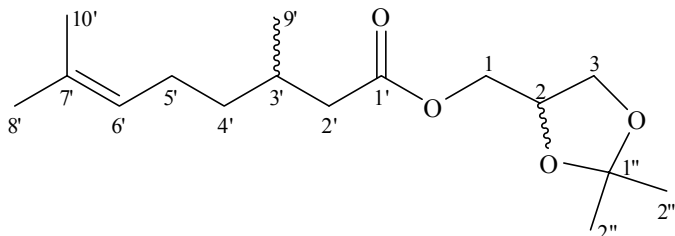
**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 183.1 (s, C-1), 131.0 (s, C-10), 125.0 (d, C-9), 39.3 (d, C-2), 37.1 (t), 36.8 (t), 33.8 (t), 32.3 (d, C-6), 25.7 (q, C-11), 25.5 (t), 24.5 (t), 19.5 (q, C-1''), 17.6 (q, C-1'''), 16.8 (q, C-1')

$[\alpha]_D^{22} = -19.7$  (c = 2.6, Diethylether)

ee (C-2) = 94.4 %, ee (C-6) = 100.0 % (gaschromatographisch, s. **Tabelle 9-3**)

## 7.6 Gezielte Synthesen der Triacylglyceride

### 7.6.1 1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-2,3-*O*-isopropylidenglycerin<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.1 durchgeführt. Es werden 2.64 g (20 mmol) 2,2-Dimethyl-4-hydroxymethyl-1,3-dioxolan (**120**), 3.75 g (22 mmol) Citronellsäure (**75**), 4.53 g (22 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 1.71 g (14 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 2:1 verwendet.

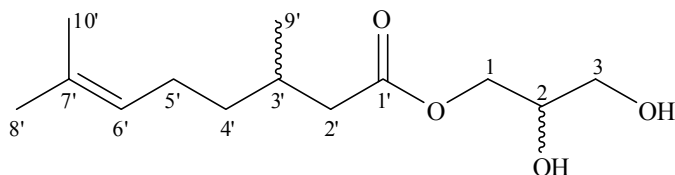
Ausbeute: 5.00 g (17.58 mmol; 87.9 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.08 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, H-6'), 4.34 – 4.28 (m, 1 H, H-2), 4.18 – 4.06 (m, 3 H, H-1, H-3), 3.76 – 3.72 (m, 1 H), 2.38 – 2.33 (m, 1 H, H-2'), 2.19 – 2.13 (m, 1 H, H-2'), 2.06 – 1.91 (m, 3 H, H-3', H-5'), 1.68 (s, 3 H, H-8'), 1.60 (s, 3 H, H-10'), 1.43 (s, 3 H, H-2''), 1.37 (s, 3 H, H-2''), 1.40 – 1.18 (m, 2 H, H-4'), 0.95 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3 H, H-9')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 172.9 (s, C-1'), 131.5 (s, C-7'), 124.2 (d, C-6'), 109.7 (s, C-1''), 73.6 (d, C-2), 66.4 (t, C-1), 64.4 (t, C-3), 41.5 (t, C-2'), 36.7 (t, C-4'), 29.9 (d, C-3'), 26.6 (q, C-2''), 25.6 (q, C-8'), 25.3 (t, C-5'; q, C-2''), 19.5 (q, C-9'), 17.6 (d, C-10')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 284 (2, M<sup>+</sup>), 269 (71), 226 (23), 211 (7), 183 (4), 169 (11), 156 (11), 143 (100), 135 (5), 129 (18), 123 (4), 117 (16), 109 (45), 101 (33), 95 (14), 82 (16), 69 (68), 55 (31), 43 (81), 41 (77)

### 7.6.2 1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-glycerin<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.2 durchgeführt. Es werden 2.02 g (7.1 mmol) 1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-2,3-*O*-isopropylidenglycerin und 7.24 ml (7.2 mmol) einer 1 M Lösung von Bortrichlorid in Dichlormethan eingesetzt.

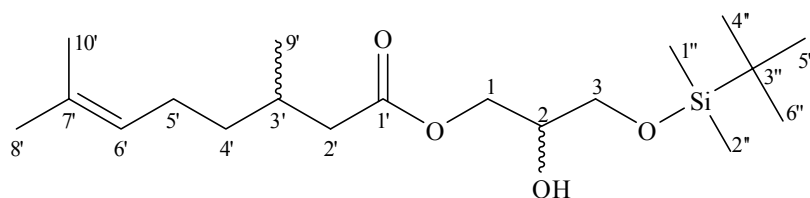
Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 1:2 verwendet.

Ausbeute: 0.82 g (3.36 mmol; 47.3 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.08 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, H-6'), 4.20 – 4.11 (m, 2 H, H-1), 3.95 – 3.90 (m, 1 H, H-2), 3.71 – 3.67 (m, 1 H, H-3), 3.61 – 3.56 (m, 1 H, H-3), 3.35 (br s, 1 H, OH), 3.05 (br s, 1 H, OH), 2.39 – 2.34 (m, 1 H, H-2'), 2.19 – 2.13 (m, 1 H, H-2'), 2.06 – 1.90 (m, 3 H, H-3', H-5'), 1.68 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 3 H, H-8'), 1.60 (s, 3 H, H-10'), 1.40 – 1.18 (m, 2 H, H-4'), 0.95 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3 H, H-9')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.7 (s, C-1'), 131.6 (s, C-7'), 124.1 (d, C-6'), 70.2 (d, C-2), 65.0 (t, C-1), 63.4 (t, C-3), 41.5 (t, C-2'), 36.7 (t, C-4'), 29.9 (d, C-3'), 25.6 (q, C-8'), 25.3 (t, C-5'), 19.5 (q, C-9'), 17.6 (q, C-10')

### 7.6.3 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.3 durchgeführt. Es werden 0.73 g (3.0 mmol) 1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-glycerin, 0.47 g (6.9 mmol) Imidazol und 1.94 g (12.9 mmol) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird zunächst ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 (400 mL) verwendet, dann ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 1:1 (400 mL).

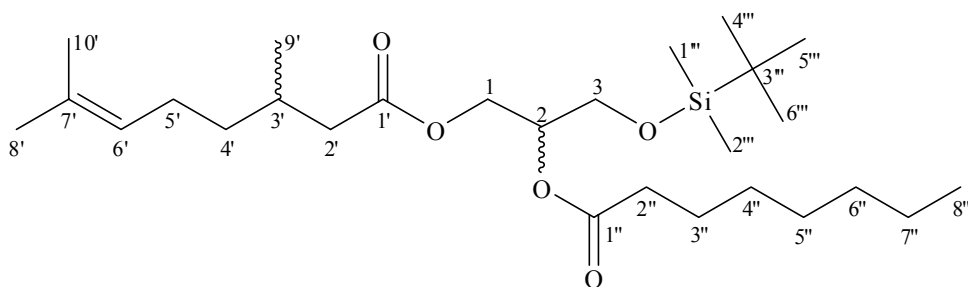
Ausbeute: 0.67 g (1.87 mmol; 62.3 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 1 H, H-6'), 4.18 – 4.08 (m, 2 H), 3.90 – 3.84 (m, 1 H, H-2), 3.69 – 3.59 (m, 2 H), 2.38 – 2.33 (m, 1 H, H-2'), 2.18 – 2.12 (m, 1 H, H-2'), 2.06 – 1.95 (m, 3 H, H-3', H-5'), 1.68 (d,  $J$  = 1.0 Hz, 3 H, H-8'), 1.60 (s, 3 H, H-10'), 1.40 – 1.18 (m, 2 H, H-4'), 0.95 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 3 H, H-9'), 0.90 (s, 9 H, H-4'', H-5'', H-6''), 0.08 (s, 6 H, H-1'', H-2'')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.4 (s, C-1'), 131.5 (s, C-7'), 124.2 (d, C-6'), 70.0 (d, C-2), 64.9 (t, C-1), 63.7 (t, C-3), 41.6 (t, C-2'), 36.7 (t, C-4'), 30.0 (d, C-3'), 25.8 (q, C-8'), 25.6 (q, C-4'', C-5'', C-6''), 25.4 (t, C-5'), 19.5 (q, C-9'), 18.0 (s, C-3''), 17.6 (q, C-10'), -3.6 (q, C-1'', C-2'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 358 (0.05, M<sup>+</sup>), 301 (9), 227 (2), 169 (3), 153 (90), 131 (62), 117 (12), 109 (75), 101 (26), 95 (18), 94 (18), 89 (19), 81 (30), 75 (67), 73 (52), 69 (100), 55 (26), 41 (53)



7.6.4 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoylglycerin<sup>[83]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.4 durchgeführt. Es werden 0.57 g (1.60 mmol) 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin, 0.25 g (1.76 mmol) Octansäure (**21**), 0.36 g (1.76 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 0.14 g (1.12 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

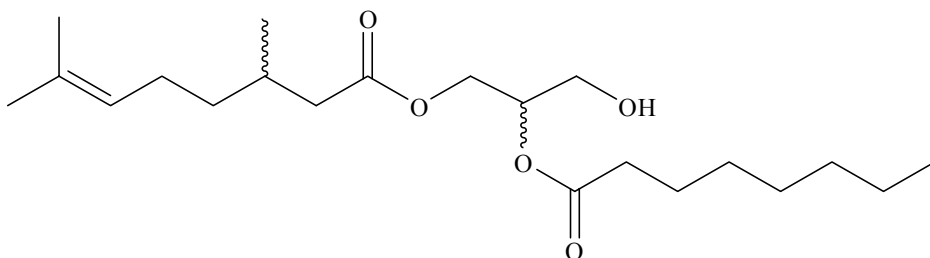
Ausbeute: 0.29 g (0.60 mmol; 37.4 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.10 – 5.04 (m, 2 H, H-2, H-6'), 4.37 – 4.33 (m, 1 H), 4.19 – 4.14 (m, 1 H), 3.75 – 3.68 (m, 2 H), 2.36 – 2.28 (m, 1 H, H-2'), 2.30 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2 H, H-2''), 2.15 – 2.08 (m, 1 H, H-2'), 2.02 – 1.91 (m, 3 H, H-3', H-5'), 1.68 (d,  $J = 0.9$  Hz, 3 H, H-8'), 1.64 – 1.58 (m, 2 H, H-3''), 1.60 (s, 3 H, H-10'), 1.40 – 1.19 (m, 10 H, H-4', H-4'', H-5'', H-6'', H-7''), 0.94 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, H-9'), 0.90 – 0.86 (m, 12 H, H-8'', H-4''', H-5''', H-6'''), 0.05 (s, 6 H, H-1''', H-2''')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.1 (s, C-1''), 172.8 (s, C-1'), 131.5 (s, C-7'), 124.2 (d, C-6'), 71.7 (d, C-2), 62.35 / 62.33 (t, C-1), 61.4 (t, C-3), 41.59 / 41.58 (t, C-2'), 36.7 (t, C-4'), 34.3 (t, C-2''), 31.6 (t, C-6''), 30.0 (d, C-3'), 29.0 (t), 28.9 (t), 25.74 (q, C-4''', C-5''', C-6'''), 25.68 (q, C-8'), 25.412 / 25.406 (t, C-5'), 24.9 (t, C-3''), 22.6 (t, C-7''), 19.5 (q, C-9'), 18.2 (s, C-3'''), 17.6 (q, C-10'), 14.0 (q, C-8''), –5.49 / –5.53 (q, C-1''', C-2''')

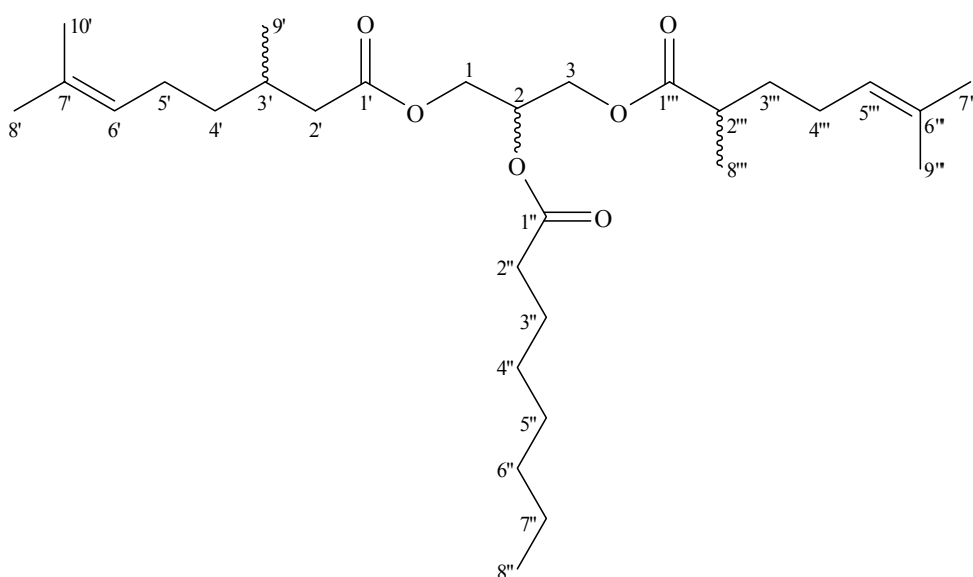
**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 484 (0.05, M<sup>+</sup>), 469 (1), 427 (60), 341 (3), 315 (6), 275 (8), 227 (27), 201 (100), 171 (16), 169 (15), 152 (21), 131 (20), 127 (20), 109 (22), 75 (21), 73 (17), 69 (20), 57 (22), 41 (12)

### 7.6.5 1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoylglycerin<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.5 durchgeführt. Es werden 0.19 g (0.40 mmol) 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoylglycerin und 1.2 mL (6.00 mmol) 5 M Salzsäure eingesetzt. Das Produkt wird sofort weiter umgesetzt.

### 7.6.6 3-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoylglycerin (127)<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.6 durchgeführt. Es werden 148 mg (0.40 mmol) 1-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoylglycerin, 69 mg (0.44 mmol) 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**), 91 mg (0.44 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 34 mg (0.28 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

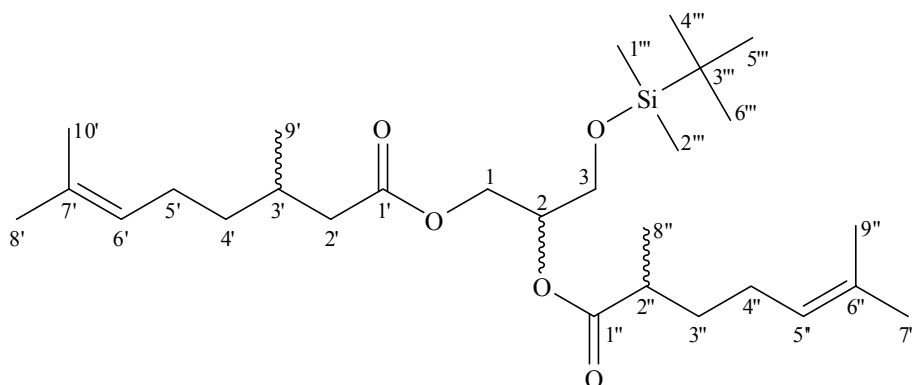
Ausbeute: 108 mg (0.21 mmol; 53.1 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.30 – 5.25 (m, 1 H, H-2), 5.10 – 4.04 (m, 2 H, H-6', H-5'''), 4.35 – 4.28 (m, 2 H, H-1, H-3), 4.18 – 4.11 (m, 2 H, H-1, H-3), 2.51 – 2.42 (m, 1 H, H-2'''), 2.37 – 2.29 (m, 1 H, H-2'), 2.31 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2 H, H-2''), 2.16 – 2.10 (m, 1 H, H-2'), 2.08 – 1.89 (m, 3 H, H-3', H-5'), 1.75 – 1.65 (m, 2 H, H-4'''), 1.68 (d,  $J = 0.8$  Hz, 6 H, H-8', H-7'''), 1.63 – 1.59 (m, 8 H, H-10', H-3'', H-9'''), 1.47 – 1.38 (m, 2 H, H-3'''), 1.37 – 1.17 (m, 10 H, H-4', H-4'', H-5'', H-6'', H-7''), 1.15 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-8''), 0.94 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, H-9'), 0.88 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, H-8'')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 176.2 (s, C-1'''), 172.8 (s, C-1''), 172.6 (s, C-1'), 132.3 (s, C-6'''), 131.6 (s, C-7'), 124.1 (d, C-6'), 123.44 / 123.43 (d, C-5'''), 68.9 (d, C-2), 62.0 (t, C-1, C-3), 41.4 (t, C-2'), 38.90 / 38.89 (d, C-2'''), 36.7 (t, C-4'), 34.2 (t, C-2''), 33.6 (t, C-3'''), 31.6 (t, C-6''), 29.9 (d, C-3'), 29.0 (t), 28.9 (t), 25.7 (q, C-8', C-7'''), 25.59 / 25.58 (t, C-4'''), 25.4 (t, C-5'), 24.8 (t, C-3''), 22.6 (t, C-7''), 19.5 (q, C-9'), 17.6 (q, C-10', C-9'''), 16.9 (q, C-8'''), 14.0 (q, C-8'')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 508 (0.4,  $\text{M}^+$ ), 365 (2), 353 (20), 339 (14), 295 (4), 269 (10), 256 (24), 227 (6), 213 (7), 201 (84), 185 (5), 172 (7), 153 (33), 152 (74), 139 (37), 127 (30), 110 (53), 109 (56), 95 (18), 94 (20), 82 (62), 69 (100), 57 (61), 41 (40)

### 7.6.7 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-2-(2,6-dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.4 durchgeführt. Es werden 0.79 g (2.20 mmol) 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin,

0.38 g (2.42 mmol) 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**), 0.50 g (2.42 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 0.19 g (1.54 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

Ausbeute: 0.45 g (0.91 mmol; 41.2 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.09 – 5.04 (m, 3 H, H-2, H-6', H-5''), 4.38 – 4.33 (m, 1 H), 4.19 – 4.14 (m, 1 H), 3.76 – 3.68 (m, 2 H), 2.48 – 2.42 (m, 1 H, H-2''), 2.35 – 2.29 (m, 1 H, H-2'), 2.14 – 2.07 (m, 1 H, H-2'), 2.02 – 1.90 (m, 3 H, H-3', H-5'), 1.76 – 1.65 (m, 2 H, H-4''), 1.68 (d,  $J = 0.6$  Hz, 6 H, H-8', H-7''), 1.59 (s, 6 H, H-10', H-9''), 1.44 – 1.17 (m, 4 H, H-4', H-3''), 1.15 (dd,  $J = 7.0$  Hz,  $J = 1.0$  Hz, 3 H, H-8''), 0.94 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, H-9'), 0.88 (s, 9 H, H-4''', H-5''', H-6'''), 0.05 (s, 6 H, H-1''', H-2''')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 176.05 / 176.03 (s, C-1''), 172.8 (s, C-1'), 132.12 / 132.10 (s, C-6''), 131.5 (s, C-7'), 124.2 (d, C-6'), 123.60 / 123.59 (d, C-5''), 71.6 (d, C-2), 62.44 / 62.40 (t, C-1), 61.43 / 61.41 (t, C-3), 41.58 / 41.56 (t, C-2'), 39.10 / 39.07 (d, C-2''), 36.7 (t, C-4'), 33.8 / 33.7 (t, C-3''), 29.9 (d, C-3'), 25.74 (q, C-4''', C-5''', C-6'''), 25.67 (q, C-8', C-7''), 25.61 / 25.45 (t, C-4''), 25.40 (t, C-5'), 19.5 (q, C-9'), 18.2 (s, C-3'''), 17.63 (q), 17.61 (q), 17.05 / 16.95 (q, C-8''), –5.5 / –5.6 (q, C-1''', C-2''')

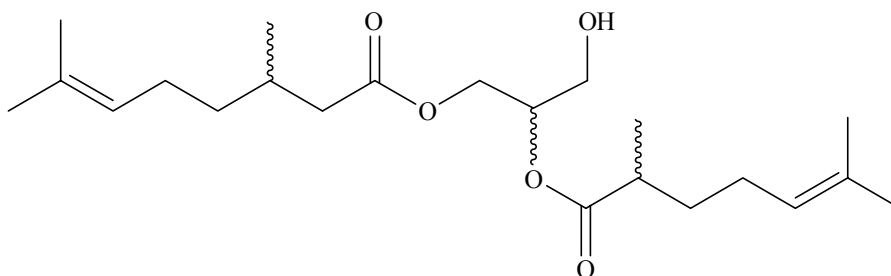
#### Retentionszeit 27.24 Minuten:

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 496 (0.1, M<sup>+</sup>), 439 (40), 357 (3), 341 (11), 327 (4), 301 (5), 287 (4), 262 (7), 257 (6), 227 (21), 213 (47), 199 (3), 187 (2), 171 (26), 153 (22), 152 (19), 143 (14), 139 (27), 131 (31), 115 (24), 109 (34), 95 (12), 82 (25), 69 (100), 55 (20), 41 (33)

#### Retentionszeit 27.29 Minuten:

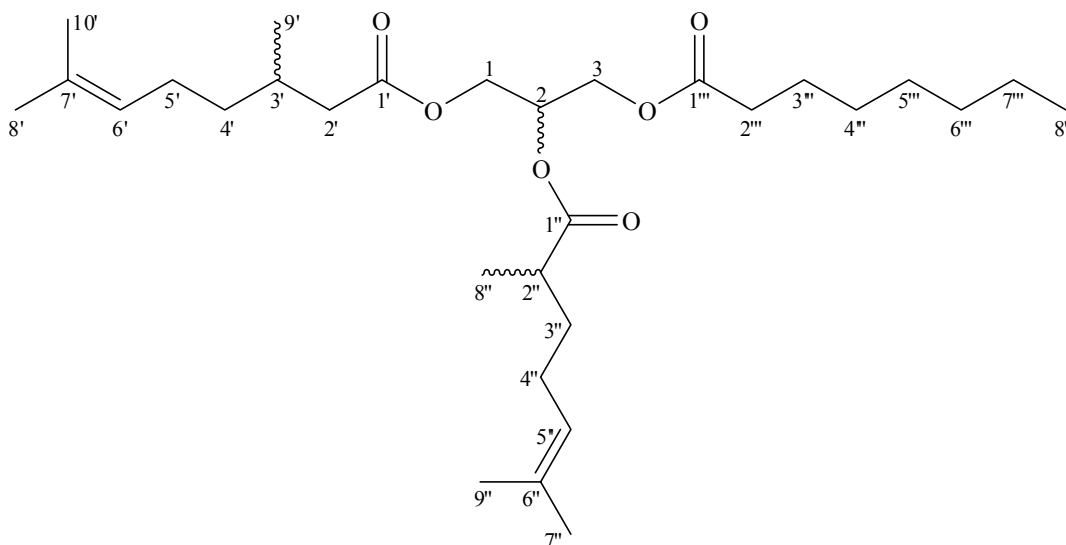
**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 496 (0.1, M<sup>+</sup>), 439 (46), 357 (4), 341 (11), 327 (5), 301 (5), 287 (4), 262 (6), 257 (6), 227 (23), 213 (52), 199 (4), 187 (2), 171 (28), 153 (23), 152 (20), 143 (15), 139 (29), 131 (34), 115 (25), 109 (36), 95 (12), 82 (24), 69 (100), 55 (20), 41 (33)

### 7.6.8 2-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.5 durchgeführt. Es werden 0.35 g (0.70 mmol) 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-2-(2,6-dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin und 2.1 mL (10.50 mmol) 5 M Salzsäure eingesetzt. Das Produkt wird sofort weiter umgesetzt.

### 7.6.9 2-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-3-octanoylglycerin (128)<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.6 durchgeführt. Es werden 270 mg (0.70 mmol) 2-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-glycerin, 111 mg (0.77 mmol) Octansäure (**21**), 159 mg (0.77 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 60 mg (0.49 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

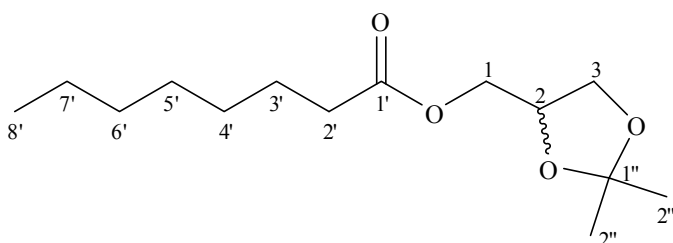
Ausbeute: 269 mg (0.53 mmol; 75.5 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.30 – 5.25 (m, 1 H, H-2), 5.09 – 5.05 (m, 2 H, H-6', H-5''), 4.34 – 4.28 (m, 2 H, H-1, H-3), 4.18 – 4.12 (m, 2 H, H-1, H-3), 2.51 – 2.42 (m, 1 H, H-2''), 2.36 – 2.28 (m, 3 H, H-2', H-2'''), 2.16 – 2.08 (m, 1 H, H-2'), 2.02 – 1.90 (m, 3 H, H-3', H-5'), 1.75 – 1.68 (m, 2 H, H-4''), 1.68 (s, 6 H, H-8', H-7''), 1.62 – 1.59 (m, 2 H, H-3'''), 1.59 (s, 6 H, H-10', H-9''), 1.46 – 1.19 (m, 10 H, H-4', H-3'', H-4''', H-5''', H-6''', H-7'''), 1.15 (d,  $J = 7.0$  Hz, 3 H, H-8''), 0.94 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, H-9'), 0.88 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, H-8''')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 175.8 (s, C-1''), 173.2 (s, C-1'''), 172.6 (s, C-1'), 132.2 (s, C-6''), 131.6 (s, C-7'), 124.1 (d, C-6'), 123.5 (d, C-5''), 68.8 (d, C-2), 62.2 / 62.1 (t, C-1, C-3), 41.4 (t, C-2'), 39.03 / 39.02 (d, C-2''), 36.7 (t, C-4'), 34.0 (t, C-2'''), 33.7 / 33.6 (t, C-3''), 31.6 (t, C-6'''), 29.9 (d, C-3'), 29.0 (t), 28.9 (t), 25.7 (q, C-8', C-7''), 25.6 (t, C-4''), 25.4 (t, C-5'), 24.8 (t, C-3'''), 22.6 (t, C-7'''), 19.5 (q, C-9'), 17.62 (q), 17.60 (q), 16.98 / 16.96 (q, C-8''), 14.0 (q, C-8''')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 508 (0.1,  $\text{M}^+$ ), 365 (2), 353 (12), 339 (12), 295 (4), 269 (8), 256 (24), 227 (4), 213 (6), 201 (51), 185 (4), 172 (6), 153 (26), 152 (69), 139 (42), 127 (17), 110 (51), 109 (46), 95 (16), 94 (17), 82 (60), 69 (100), 57 (40), 41 (33)

#### 7.6.10 1-Octanoyl-2,3-*O*-isopropylidenglycerin<sup>[83]</sup>



Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.1 durchgeführt. Es werden 2.64 g (20 mmol) 2,2-Dimethyl-4-hydroxymethyl-1,3-dioxolan (**120**), 3.17 g (22 mmol) Octansäure (**21**), 4.53 g (22 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 1.71 g (14 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 2:1 verwendet.

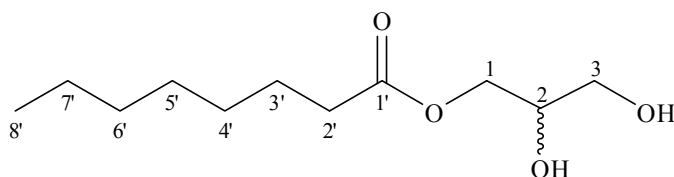
Ausbeute: 4.79 g (18.54 mmol; 92.7 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 4.34 – 4.29 (m, 1 H, H-2), 4.19 – 4.06 (m, 3 H, H-1, H-3), 3.74 (dd,  $J = 8.4$  Hz,  $J = 6.2$  Hz, 1 H), 2.34 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2 H, H-2'), 1.65 – 1.53 (m, 2 H, H-3'), 1.43 (s, 3 H, H-2''), 1.37 (s, 3 H, H-2''), 1.30 – 1.19 (m, 8 H, H-4', H-5', H-6', H-7'), 0.88 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, H-8')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 173.5 (s, C-1'), 109.7 (s, C-1''), 73.6 (d, C-2), 66.3 / 64.4 (t, C-1, C-3), 26.6 (q), 25.3 (q), 14.0 (q, C-8')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 243 (100), 201 (2), 171 (5), 157 (2), 127 (31), 116 (13), 109 (3), 101 (32), 83 (3), 72 (6), 57 (26), 43 (29)

#### 7.6.11 1-Octanoylglycerin<sup>[83]</sup>



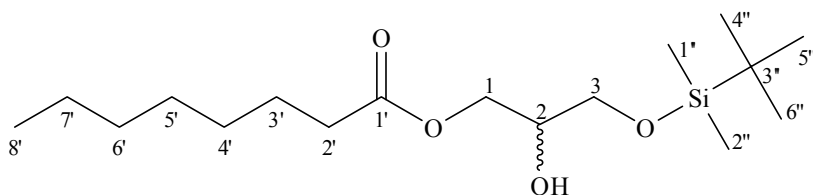
Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.2 durchgeführt. Es werden 3.67 g (14.2 mmol) 1-Octanoyl-2,3-*O*-isopropylidenglycerin und 14.48 ml (14.5 mmol) einer 1 M Lösung von Bortrichlorid in Dichlormethan eingesetzt.

Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 1:2 verwendet.

Ausbeute: 1.50 g (6.87 mmol; 48.4 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 4.19 – 4.11 (m, 2 H, H-1), 3.95 – 3.88 (m, 1 H, H-2), 3.71 – 3.56 (m, 2 H, H-3), 3.40 (s, 1 H, OH), 3.09 (s, 1 H, OH), 2.35 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2 H, H-2'), 1.66 – 1.59 (m, 2 H, H-3'), 1.36 – 1.25 (m, 8 H, H-4', H-5', H-6', H-7'), 0.88 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, H-8')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 174.3 (s, C-1'), 70.2 (d, C-2), 65.0 / 63.3 (t, C-1, C-3), 34.1 (t), 31.6 (t), 29.0 (t), 28.8 (t), 24.8 (t), 22.5 (t), 14.0 (q, C-8')

7.6.12 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-octanoylglycerin<sup>[83]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.3 durchgeführt. Es werden 1.09 g (5.0 mmol) 1-Octanoylglycerin, 0.78 g (11.5 mmol) Imidazol und 3.24 g (21.5 mmol) *tert*-Butyldimethylsilylchlorid eingesetzt.

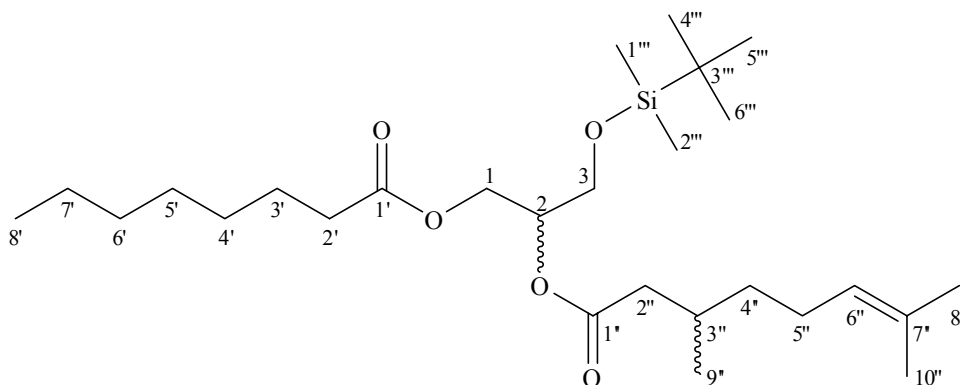
Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird zunächst ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 (650 mL) verwendet, dann ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 1:1 (950 mL).

Ausbeute: 1.13 g (3.40 mmol; 68.0 %)

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 4.18 – 4.09 (m, 2 H, H-1), 3.91 – 3.84 (m, 1 H, H-2), 3.69 – 3.59 (m, 2 H, H-3), 2.34 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 2 H, H-2'), 1.67 – 1.59 (m, 2 H, H-3'), 1.30 – 1.28 (m, 8 H, H-4', H-5', H-6', H-7'), 0.90 (s, 9 H, H-4'', H-5'', H-6''), 0.88 (t,  $J$  = 7.0 Hz, 3 H, H-8'), 0.08 (s, 6 H, H-1'', H-2'')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 174.0 (s, C-1'), 70.0 (d, C-2), 65.0 / 63.7 (t, C-1, C-3), 34.2 (t), 31.6 (t), 29.1 (t), 28.9 (t), 25.6 (q, C-4'', C-5'', C-6''), 24.9 (t), 22.6 (t), 18.0 (s, C-3''), 14.0 (q, C-8'), -3.6 (q, C-1'', C-2'')



7.6.13 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-2-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoylglycerin<sup>[83]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.4 durchgeführt. Es werden 1.00 g (3.00 mmol) 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-1-octanoylglycerin, 0.56 g (3.30 mmol) Citronellsäure (**75**), 0.68 g (3.30 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 0.26 g (2.10 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

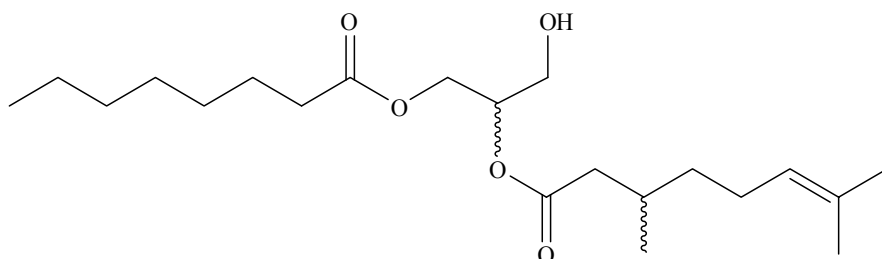
Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

Ausbeute: 0.71 g (1.46 mmol; 48.8 %)

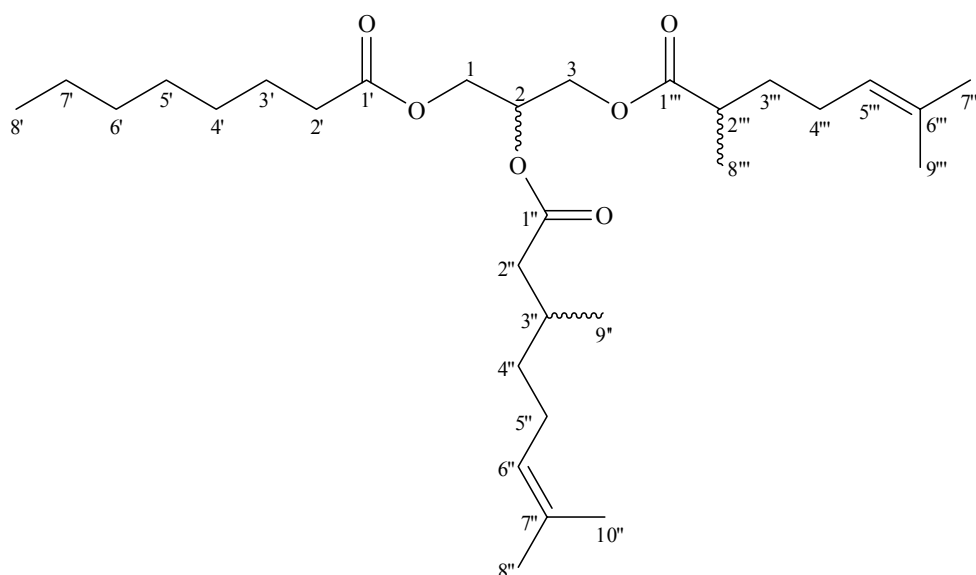
**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 5.11 – 5.06 (m, 2 H, H-2, H-6''), 4.36 – 4.32 (m, 1 H), 4.18 – 4.13 (m, 1 H), 3.75 – 3.66 (m, 2 H), 2.37 – 2.30 (m, 1 H, H-2''), 2.30 (t,  $J$  = 7.7 Hz, 2 H, H-2'), 2.16 – 2.09 (m, 1 H, H-2''), 2.06 – 1.91 (m, 3 H, H-3'', H-5''), 1.68 (d,  $J$  = 0.8 Hz, 3 H, H-8''), 1.65 – 1.55 (m, 2 H, H-3'), 1.60 (s, 3 H, H-10''), 1.41 – 1.18 (m, 10 H, H-4', H-5', H-6', H-7', H-4''), 0.95 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 3 H, H-9''), 0.90 – 0.86 (m, 3 H, H-8'), 0.88 (s, 9 H, H-4''', H-5''', H-6'''), 0.05 (s, 6 H, H-1''', H-2''')

**<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  [ppm] = 173.4 (s, C-1'), 172.4 (s, C-1''), 131.5 (s, C-7''), 124.2 (d, C-6''), 71.7 (d, C-2), 62.5 (t), 61.5 (t), 41.8 (t, C-2''), 36.72 / 36.71 (t, C-4''), 34.1 (t), 31.6 (t), 30.00 / 29.98 (d, C-3''), 29.1 (t), 28.9 (t), 25.74 (q, C-4''', C-5''', C-6'''), 25.67 (q, C-8''), 25.4 (t, C-5''), 24.9 (t), 22.6 (t), 19.52 / 19.47 (q, C-9''), 18.2 (s, C-3'''), 17.6 (d, C-10''), 14.0 (q, C-8'), –5.51 / –5.55 (q, C-1''', C-2''')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 484 (0.2, M<sup>+</sup>), 469 (1), 427 (63), 353 (1), 341 (3), 333 (1), 315 (11), 299 (2), 275 (32), 257 (3), 243 (4), 227 (46), 209 (4), 201 (100), 185 (2), 169 (33), 152 (35), 131 (33), 109 (42), 94 (16), 81 (12), 75 (36), 73 (35), 69 (43), 57 (41), 41 (30)

7.6.14 2-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoylglycerin<sup>[83]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.5 durchgeführt. Es werden 0.34 g (0.70 mmol) 3-*tert*-Butyldimethylsilyl-2-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoylglycerin und 2.1 mL (10.50 mmol) 5 M Salzsäure eingesetzt. Das Produkt wird sofort weiter umgesetzt.

7.6.15 3-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-2-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoylglycerin (129)<sup>[83]</sup>

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.11.6 durchgeführt. Es werden 260 mg (0.70 mmol) 2-(3,7-Dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoylglycerin, 120 mg (0.77 mmol) 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**), 159 mg (0.77 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 60 mg (0.49 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 272 mg (0.53 mmol; 76.4 %)

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 5.31 – 5.26 (m, 1 H, H-2), 5.10 – 5.05 (m, 2 H, H-6'', H-5'''), 4.34 – 4.27 (m, 2 H, H-1, H-3), 4.18 – 4.11 (m, 2 H, H-1, H-3), 2.48 – 2.43 (m, 1 H, H-2'''), 2.37 – 2.29 (m, 1 H, H-2''), 2.31 (t,  $J = 7.6$  Hz, 2 H, H-2'), 2.16 – 2.10 (m, 1 H, H-2''), 2.03 – 1.93 (m, 3 H, H-3'', H-5''), 1.75 – 1.66 (m, 8 H, H-8'', H-4''', H-7'''), 1.63 – 1.59 (m, 8 H, H-3', H-10'', H-9'''), 1.47 – 1.18 (m, 10 H, H-4', H-5', H-6', H-7', H-4'', H-3'''), 1.15 (dd,  $J = 7.0$  Hz,  $J = 1.1$  Hz, 3 H, H-8'''), 0.95 (d,  $J = 6.6$  Hz, 3 H, H-9''), 0.88 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3 H, H-8')

**$^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  [ppm] = 176.2 (s, C-1'''), 173.2 (s, C-1'), 172.2 (s, C-1''), 132.2 (s, C-6'''), 131.5 (s, C-7''), 124.1 (d, C-6''), 123.4 (d, C-5'''), 68.9 (d, C-2), 62.13 / 62.08 (t, C-1, C-3), 41.6 / 41.5 (t, C-2''), 38.9 (d, C-2'''), 36.7 (t, C-4''), 34.0 (t, C-2'), 33.6 (t, C-3'''), 31.6 (t, C-6'), 30.0 (d, C-3''), 29.0 (t), 28.9 (t), 25.7 (d, C-8'', C-7'''), 25.59 / 25.57 (t, C-4'''), 25.4 (t, C-5''), 24.8 (t, C-3'), 22.6 (t, C-7'), 19.4 (q, C-9''), 17.61 (q), 17.59 (q), 16.9 (q, C-8'''), 14.0 (q, C-8')

**EI-MS (70 eV):**  $m/z$  (%) = 508 (0.2,  $\text{M}^+$ ), 365 (2), 353 (18), 339 (13), 295 (3), 269 (8), 256 (54), 227 (5), 213 (5), 201 (47), 185 (4), 172 (7), 153 (35), 152 (59), 139 (26), 127 (16), 110 (48), 109 (53), 95 (16), 94 (19), 82 (50), 69 (100), 57 (45), 41 (46)

## 7.7 Statistische Synthesen von Triacylglyceriden<sup>[83]</sup>

### 7.7.1 Triacylglycerid-Gemisch 1

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.12 durchgeführt. Es werden 0.55 g (6.0 mmol) Glycerin, 0.95 g (6.6 mmol) Octansäure (**21**), 1.03 g (6.6 mmol) 2,6-Dimethyl-5-heptensäure (**69**), 1.12 g (6.6 mmol) Citronellsäure (**75**), 4.09 g (19.8 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 1.54 g (12.6 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 2.18 g (71.4 %)

### 7.7.2 Triacylglycerid-Gemisch 2

Die Reaktion wird entsprechend der Arbeitsvorschrift 7.3.12 durchgeführt. Es werden 50 mg (0.54 mmol) Glycerin, 126 mg (0.90 mmol) (4*E*,6*E*)-4,6-Octadiensäure (**A**), 203 mg (0.90 mmol) *rac*-2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (**B**), 371 mg (1.80 mmol) Dicyclohexylcarbodiimid und 140 mg (1.14 mmol) 4-Dimethylaminopyridin eingesetzt.

Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, als Laufmittel wird ein Gemisch aus Pentan und Diethylether im Volumenverhältnis 5:1 verwendet.

Ausbeute: 170 mg (52.5 %)

## 7.8 Analytik

### 7.8.1 Aufklärung der Konfiguration der Doppelbindungen

Zur Bestimmung der Konfiguration der Doppelbindungen der 4,6-Octadien-, 4,7-Decadien- und 2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäure wurden gaschromatographische Koinjektionen der synthetisierten Methylester mit umgeesterten Naturproben an einer unpolaren Säule (HP-5, 30 m × 0.32 mm i. D., 0.25 µm Filmdicke; *Hewlett-Packard*) durchgeführt. Für alle drei Verbindungen wurde dabei das gleiche Heizprogramm eingesetzt: die Starttemperatur von 50 °C wurde fünf Minuten konstant gehalten, danach wurde mit einem Gradienten von 3 °C / Minute auf 175 °C und anschließend mit einem Gradienten von 10 °C / Minute auf 275 °C geheizt.

### 7.8.2 Gaschromatographie (GC) von 127, 128 und 129

Es wurden Trennungen von Gemischen aus jeweils zwei der drei Modellverbindungen mit definierter Fettsäurezusammensetzung (**127**, **128** und **129**) an einer unpolaren stationären Phase (BPX-5, 25 m × 0.22 mm i. D., 0.25 µm Filmdicke; *SGE*) durchgeführt. Das verwendete Heizprogramm hatte eine Starttemperatur von 175 °C, die fünf Minuten konstant gehalten wurde. Anschließend wurde mit einem Gradienten von 5 °C / Minute auf 320 °C geheizt.

### 7.8.3 Silberionen-HPLC

Nach der Methode von CHRISTIE<sup>[96]</sup> wurde eine HPLC-Säule mit einer Nucleosil 5SA Phase (250 × 4.6 mm; *Macherey-Nagel*) zunächst mit einer 1 %igen wässrigen Ammoniumacetat-Lösung und mit dest. Wasser gespült, um die ursprünglich vorhandenen Na<sup>+</sup>-Ionen durch NH<sub>4</sub><sup>+</sup> zu ersetzen. Anschließend wurde eine wässrige Silbernitrat-Lösung (0.2 g / mL) in kleinen Portionen auf die Säule gegeben. Die Säule wurde mit Methanol und Dichlormethan gewaschen und bis zur Verwendung unter Hexan gelagert. Als mobile Phase wurde Hexan mit einem geringen Zusatz von Acetonitril (0.5 – 1.0 Vol.-%) verwendet.

#### 7.8.4 Normaldrucksäulenchromatographie im Mikromaßstab an silbernitrat-imprägniertem Kieselgel<sup>[95]</sup>

Zunächst wurden 5 g Kieselgel mit 15 mL einer 40 %igen wässrigen Silbernitrat-Lösung 30 Minuten auf 100 °C erhitzt und anschließend über Nacht bei 110 °C getrocknet. Eine geeignete Säule (entleerte SPE-Säule) wurde mit 1.2 g des imprägnierten Kieselgels befüllt. Dann wurde von 20 µL der zu trennenden Naturprobe das Lösungsmittel abgedampft. Der Rückstand wurde in 20 µL Hexan aufgenommen und auf die Säule aufgetragen. Nach einer Einwirkzeit von 5 Minuten erfolgte die Elution mit einem Stufengradienten. Dabei wurde zunächst Hexan mit einem steigenden Anteil an Diethylether, danach reiner Diethylether und schließlich Diethylether mit einem steigenden Anteil an Acetonitril verwendet. Die genaue Zusammensetzung des Stufengradienten zeigt **Tabelle 5-3** (in Kapitel 5.1.3). Die erhaltenen Fraktionen (jeweils 5 mL) wurden mit Wasser gewaschen und das Lösungsmittel wurde entfernt. Die Rückstände wurden jeweils in 10 µL Dichlormethan aufgenommen. Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie wurden die Fraktionen, die Triacylglyceride enthielten, identifiziert.

## 8 Literatur

- [1] H. Römpp, J. Falbe, M. Regitz, *Römpp Lexikon Chemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 10. Auflage, **1996**.
- [2] R. T. Mason in *Biology of the Reptilia: Volume 18 – Physiology E* (Hrsg.: C. Gans, D. Crews), The University of Chicago Press, Chicago, London, **1992**, S. 114f.
- [3] P. J. Weldon, B. Flachsbarth, S. Schulz, *Nat. Prod. Rep.* **2008**, *25*, 738 – 756.
- [4] S. Garcia-Rubio, A. B. Attygalle, P. J. Weldon, J. Meinwald, *J. Chem. Ecol.* **2002**, *28*, 769 – 781.
- [5] R. T. Mason, H. M. Fales, T. H. Jones, L.K. Pannell, J. W. Chinn, D. Crews, *Science* **1989**, *245*, 290 – 293.
- [6] M. P. LeMaster, R. T. Mason, *Chemoecology* **2001**, *11*, 149 – 152.
- [7] M. P. LeMaster, R. T. Mason, *J. Chem. Ecol.* **2002**, *28*, 1269 – 1285.
- [8] M. P. LeMaster, R. T. Mason, *J. Chem. Ecol.* **2003**, *29*, 1027 – 1043..
- [9] P. Lopez, J. Martin, *Z. Naturforsch. C* **2005**, *60*, 632 – 636.
- [10] J. Martin, P. Lopez, *Proc. R. Soc. London, Ser. B* **2006**, *273*, 2619 – 2624.
- [11] IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *J. Lipid Res.* **1967**, *8*, 523 – 528.
- [12] W. Westheide, R. Rieger, A. Goldschmid, *Spezielle Zoologie, Teil 2: Wirbel- oder Schädeltiere*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, **2004**, S. 341 – 357.
- [13] L. A. Moffat in *Biology of the Reptilia: Volume 14 – Development A* (Hrsg.: C. Gans, F. Billett, P. F. A. Maderson), John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapur, **1985**, S. 495ff.
- [14] R. A. Avery in *Biology of the Reptilia: Volume 12 – Physiology C* (Hrsg.: C. Gans, F. H. Pough), Academic Press, London, New York, Paris, San Diego, San Francisco, Sao Paulo, Sydney, Tokio, Toronto, **1982**, S. 134f.
- [15] F. B. Turner in *Biology of the Reptilia: Volume 7 – Ecology and behaviour A* (Hrsg.: C. Gans, D. W. Tinkle), Academic Press, London, New York, San Francisco, **1977**, S. 242.
- [16] G. Y. Walls, *New Zealand Journal of Ecology* **1981**, *4*, 89 – 97.
- [17] J. Castanet; D. G. Newman, H. Saint Girons, *Herpetologica* **1988**, *44*, 25 - 37.
- [18] D. R. Body, *Experientia* **1985**, *41*, 1055 – 1057.
- [19] D. R. Body, D. G. Newman, *Comp. Biochem. Physiol.* **1989**, *93B*, 223 – 227.

- [20] W. Westheide, R. Rieger, A. Goldschmid, *Spezielle Zoologie, Teil 2: Wirbel- oder Schädeltiere*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, **2004**, S. 16f.
- [21] P. J. Weldon, M. W. J. Ferguson, *Brain Behav. Evol.* **1993**, *41*, 239 – 245.
- [22] S. Schulz, K. Krückert, P. J. Weldon, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 34 – 38.
- [23] J. W. Wheeler, S. A. Ibrahim, P. J. Weldon, *Biochem. Syst. Ecol.* **1999**, *27*, 27 – 32.
- [24] S. A. Ibrahim, J. W. Avery, P. J. Weldon, J. W. Wheeler, *Z. Naturforsch., C* **1998**, *53*, 201 – 209.
- [25] M. Fritzsche, *Identifizierung und Synthese von Inhaltsstoffen aus den Paracloacaldrüsen von Brückenechsen (Tuatara)*, Diplomarbeit, Technische Universität Braunschweig, **2003**.
- [26] B. Körner, *Synthese und Identifizierung von Fettsäuren aus dem Paracloacaldrüsensekret der Brückenechse*, Diplomarbeit, Technische Universität Braunschweig, **2004**.
- [27] P. J. Weldon, persönliche Mitteilung.
- [28] T. Kim, G. A. Mirafzal, J. Liu, N. L. Bauld, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7653 – 7664.
- [29] D. Cane, M. Tandon, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5355 – 5358.
- [30] C.-G. Arsene, *Strukturaufklärung und Reaktivität langkettiger Lipide von Lepidopteren*, Dissertation, Technische Universität Braunschweig, Tenea Verlag, Berlin, **2003**.
- [31] J. R. Doyle, P. E. Slade, H. B. Jonassen, *Inorg. Synth.* **1960**, *6*, 216 – 219.
- [32] M. Alami, B. Crousse, F. Ferri, *J. Org. Chem.* **2001**, *624*, 114 – 123.
- [33] C. A. Brown, V. K. Ahuja, *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 2226 – 2230.
- [34] C. A. Brown, V. K. Ahuja, *J. C. S. Chem. Comm.* **1973**, 553 – 554.
- [35] H. Akita, N. Sutou, T. Sasaki, K. Kato, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11592 – 11598.
- [36] P. J. Kocienski, *Protecting Groups, Third Edition*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2005**, S. 199 – 216.
- [37] S. Hong, A. M. Kawaoka, T. J. Marks, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15878 – 15892.
- [38] T. D. Avery, D. Caiazza, J. A. Culbert, D. K. Taylor, E. R. T. Tiekink, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8344 – 8351.
- [39] S. Tsuboi, S. Maeda, A. Takeda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, *59*, 2050 – 2052.
- [40] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 5. Auflage, **1995**.



- [41] H. Friebolin, *Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**, S. 89.
- [42] M. Müller, *Synthese von Trihydroxyeiconsäuren zur Bestimmung der absoluten Konfiguration des "egg-hatching-factors" bei Seepocken*, Dissertation, Technische Universität Braunschweig, **2003**.
- [43] H. J. Bestmann, W. Stransky, O. Vostrowsky, *Chem. Ber.* **1976**, *109*, 1694 – 1700.
- [44] D. J. Burnell, H. B. Goodbrand, S. M. Kaiser, Z. Valenta, *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 154 – 165.
- [45] T. Jeffery, S. Gueugnot, G. Linstumelle, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5757 – 5760.
- [46] A. B. Attygalle, A. Svatos, C. Wilcox, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1696 – 1703.
- [47] W. M. N. Ratnayake, R. Hollywood, E. O'Grady, J. L. Beare-Rogers, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1990**, *67*, 804 – 810.
- [48] D. Joulain, W. A. König, *The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons*, E.B.-Verlag, Hamburg, **1998**.
- [49] S. J. Bailey, E. J. Thomas, S. M. Vather, J. Wallis, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1983**, 851 – 859.
- [50] I. A. Pearl, *Org. Synth.* **1963**, *Collective Vol. IV*, 972 – 977.
- [51] B. V. Burger, W. G. B Petersen, W. G. Weber, Z. M. Munro, *J. Chem. Ecol.* **2002**, *28*, 2527 – 2539.
- [52] K. Mori, S. Tamada, *Tetrahedron* **1979**, *35*, 1279-1284.
- [53] M. Huckstep, R. J. K. Taylor, *Synthesis* **1982**, *10*, 881-882.
- [54] A. Ohta, D. Sawamoto, K. P. Jayasundera, H. Kinoshita, K. Inomata, *Chem. Lett.* **2000**, *5*, 492 – 493.
- [55] H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke, E. Fanghänel, J. Faust, M. Fischer, F. Gentz, K. Gewalt, R. Gluch, R. Mayer, K. Müller, D. Pavel, H. Schmidt, K. Schollberg, K. Schwetlick, E. Seiler, G. Zeppenfeld, *Organikum*, Johann Ambrosius Barth Verlag, Leipzig, 19. Auflage, **1993**.
- [56] P. E. Sonnet, *Synth. Commun.* **1976**, *6*, 21 – 26.
- [57] S. Schulz, S. Toft, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 6805-6820.
- [58] D. Ibarra, *Synthese von Homologen und Derivaten des Terrestrols*, Diplomarbeit, Universität Hamburg, **1992**.
- [59] A. Goutopoulos, P. Fan, A. D. Khanolkar, X.-Q. Xie, S. Lin, A. Makriyannis, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 1673 – 1684.

- [60] Y. Horiguchi, S. Matsuzawa, E. Nakamura, I. Kuwajima, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 4025 – 4028.
- [61] E. Nakamura, S. Matsuzawa, Y. Horiguchi, I. Kuwajima, *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27, 4029 – 4032.
- [62] G. W. Francis, *Chemistry and Physics of Lipids* **1981**, 29, 369 – 374.
- [63] M. Vincenti, G. Guglielmetti, G. Cassani, C. Tonini, *Anal. Chem.* **1987**, 59, 694 – 699.
- [64] N. M. Carballeira, F. Shalabi, C. Cruz, *Tetrahedron Letters* **1994**, 35, 5575 – 5578.
- [65] N. M. Carballeira, C. Cruz, *Chemistry and Physics of Lipids* **1996**, 84, 81 – 85.
- [66] E. Breitmaier, *Terpenes*, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, **2006**.
- [67] L. K. Cartland-Shaw, A. Cree, C. M. Skeaff, N. M. Grimmond, *J. Comp. Physiol. B* **1998**, 168, 569 – 580.
- [68] S. Schulz, K. Krückert, P. J. Weldon, *J. Nat. Prod.* **2003**, 66, 34 – 38.
- [69] H. Idstein, C. Bauer, P. Schreier, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **1985**, 180, 394 – 397.
- [70] H. Shiota, *J. Agrlc. Food Chem.* **1991**, 39, 1631 – 1635.
- [71] T. Teai, A. Claude-Lafontaine, C. Schippa, F. Cozzolino, *J. Essent.Oil Res.* **2005**, 17, 368 – 372.
- [72] J. A. Pino, R. Marbot, J. Agüero, *J. Essent.Oil Res.* **2002**, 14, 252 – 253.
- [73] O. Lamikanra, O. A. Richard, *J. Sci. Food Agric.* **2004**, 84, 1812 – 1816.
- [74] S. W. Ayer, R. J. Andersen, *Experientia* **1983**, 39, 255 – 256.
- [75] B. V. Burger, Z. Munro, M. Röth, H. S. C. Spies, V. Truter, G. D. Tribe, R. M. Crewe, *Z. Naturforsch.* **1983**, 38c, 848 – 855.
- [76] T. Suzuki, K. Haga, T. Tsutsumi, S. Matsuyama, *J. Chem. Ecol.* **2000**, 26, 2449 – 2458.
- [77] J. P. Farine, O. Bonnard, R. Brossut, J. L. Le Quere, *J. Chem. Ecol.* **1992**, 18, 65 – 76.
- [78] G. R. Takeoka, R. G. Buttery, R. A. Flath, *J. Agric. Food Chem.* **1992**, 40, 1925 – 1929.
- [79] R. Kaiser, *J. Essent.Oil Res.* **1991**, 3, 129 – 146.
- [80] R. Naef, A. Velluz, A. Jaquier, *Eur. Food Res. Technol.* **2006**, 222, 554 – 558.
- [81] H.-Y. Ho, J. G. Millar, *J. Chem. Ecol.* **2001**, 27, 2067 – 2095.
- [82] B. Flachsbarth, M. Fritzsche, P. J. Weldon, S. Schulz, *Chemistry & Biodiversity* **2009**, 6, 1 – 37.
- [83] J.-P. Starck, Y. Nakatani, G. Ourisson, *Tetrahedron* **1995**, 51, 2629 – 2638.

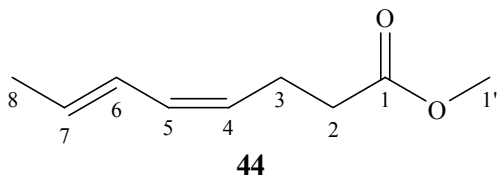
- [84] W. W. Christie, *Lipid Analysis, Third Edition*, The Oily Press, Bridgwater, **2003**, S. 37ff.
- [85] E. Geeraert, P. Sandra, *J. High Resol. Chromatogr./ Chromatogr. Commun.* **1984**, 7, 431 – 432.
- [86] V. Ruiz-Gutierrez, L. J. R. Barron, *J. Chromatogr. B* **1995**, 671, 133 – 168.
- [87] M. Buchgraber, F. Ulberth, H. Emons, E. Anklam, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2004**, 106, 621 – 648.
- [88] B. Nikolova-Damyanova, *Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography: General principles and application to the analysis of fatty acids and triacylglycerols* in *Advances in Lipid Methodology – Four*, The Oily Press, Dundee, **1997**, S. 193 – 251.
- [89] P. R. Redden, Y.-S. Huang, X. Lin, D. F. Horrobin, *J. Chromatogr. A* **1995**, 694, 381 – 389.
- [90] L. J. R. Barron, G. Santa-Maria, *Chromatographia* **1989**, 28, 183 – 188.
- [91] B. Nikolova-Damyanova, *Silver ion chromatography and lipids* in *Advances in Lipid Methodology – One*, The Oily Press, Ayr, **1992**, S. 181 – 237.
- [92] R. O. Adlof, E. A. Emken, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1980**, 57, 276 – 278.
- [93] R. O. Adlof, *J. High Resol. Chromatogr.* **1995**, 18, 105 – 107.
- [94] R. O. Adlof, G. R. List, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51, 2096 – 2099.
- [95] K. Kemper, H.-U. Melchert, K. Rubach, H. Hoffmeister, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1988**, 331, 634 – 641.
- [96] W. W. Christie, *J. High Res. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* **1987**, 10, 148 – 150.
- [97] W. W. Christie, *Journal of Chromatography* **1988**, 454, 273 – 284.
- [98] L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. L. Glajch, *Practical HPLC Method Development, Second Edition*, John Wiley & Sons, New York, Chichester, Weinheim, Brisbane, Singapur, Toronto, **1997**, S. 63ff.
- [99] P. Laakso, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2002**, 104, 43 – 49.
- [100] T. Murata, *Anal. Chem.* **1977**, 49, 2209 – 2213.
- [101] A. S. Huang, L. R. Robinson, T. A. Pelluso, L. G. Gursky, A. Pidel, A. Manz, B. J. Softly, G. J. Templeman, J. W. Finley, G. A. Leveille, *J. Agric. Food Chem.* **1997**, 45, 1770 – 1778.
- [102] J. J. Myher, A. Kuksis, L. Marai, P. Sandra, *J. Chromatogr.* **1988**, 452, 93 – 118.

- [103] E. Hvattum, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2001**, *15*, 187 – 190.
- [104] W. C. Byrdwell, W. E. Neff, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2002**, *16*, 300 – 319.
- [105] K. L. Duffin, J. D. Henion, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1781 – 1788.
- [106] C. Cheng, M. L. Gross, *Anal. Chem.* **1998**, *70*, 4417 – 4426.
- [107] W. W. Christie, *Lipid Analysis, Third Edition*, The Oily Press, Bridgwater, **2003**, S. 373ff.
- [108] F. H. Mattson, R. A. Volpenhein, *J. Lipid Res.* **1961**, *2*, 58 – 62.
- [109] H. Brockerhoff, *J. Lipid Res.* **1965**, *6*, 10 – 15.
- [110] W.W. Christie, J.H. Moore, *Biochim. Biophys. Acta* **1969**, *176*, 445 – 452.
- [111] P. Laakso, W. W. Christie, *Lipids* **1990**, *25*, 349 – 353.
- [112] W. W. Christie, B. Nikolova-Damyanova, P. Laakso, B. Herslof, *J. Am Oil Chem. Soc.* **1991**, *68*, 695 – 701.
- [113] F. Santinelli, P. Damiani, W. W. Christie, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1992**, *69*, 552 – 556.
- [114] W. W. Christie, *The positional distributions of fatty acids in triglycerides in Analysis of Oils and Fats*, Elsevier Applied Science Publishers, London, New York, **1986**, S. 313 – 339.
- [115] R. Lehner, A. Kuksis, *Prog. Lipid Res.* **1996**, *35*, 169 – 201.
- [116] W. W. Christie, *Gas Chromatography and Lipids*, The Oily Press, Ayr, **1989**.
- [117] W. W. Christie, B. Nikolova-Damyanova, P. Laakso, B. Herslof, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1991**, *68*, 695 – 701.
- [118] H.-O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun, *<sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1984**.

## 9 Anhang

### 9.1 2D-NMR der (4Z,6E)- und (4Z,6Z)-Isomere des 4,6-Octadiensäuremethylesters

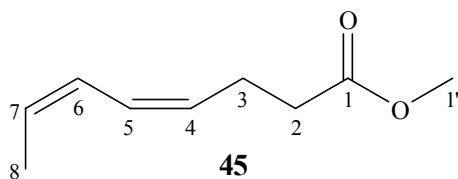
#### 9.1.1 (4Z,6E)-4,6-Octadiensäuremethylester (44)



**Tabelle 9-1:** Kopplungen des  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY-Experiments von (4Z,6E)-4,6-Octadiensäuremethylester (**44**). Chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

			H-6	H-5	H-7	H-4	H-1'	H-3	H-2	H-8
			6.37 – 6.29	6.04 – 5.95	5.75 – 5.66	5.28 – 5.21	3.67	2.52 – 2.46	2.42 – 2.36	1.78
			m, 1 H	m, 1 H	m, 1 H	m, 1 H	s, 3 H	m, 2 H	m, 2 H	dd, 3 H
H-6	6.37 – 6.29	m, 1 H		X	X					X
H-5	6.04 – 5.95	m, 1 H	X			X		x		
H-7	5.75 – 5.66	m, 1 H	X							X
H-4	5.28 – 5.21	m, 1 H		X				X		
H-1'	3.67	s, 3 H								
H-3	2.52 – 2.46	m, 2 H		x		X			X	
H-2	2.42 – 2.36	m, 2 H						X		
H-8	1.78	dd, 3 H	X		X					

### 9.1.2 (4Z,6Z)-4,6-Octadiensäuremethylester (45)



**Tabelle 9-2:** Kopplungen des  $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY-Experiments von (4Z,6Z)-4,6-Octadiensäuremethylester (**45**). Chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

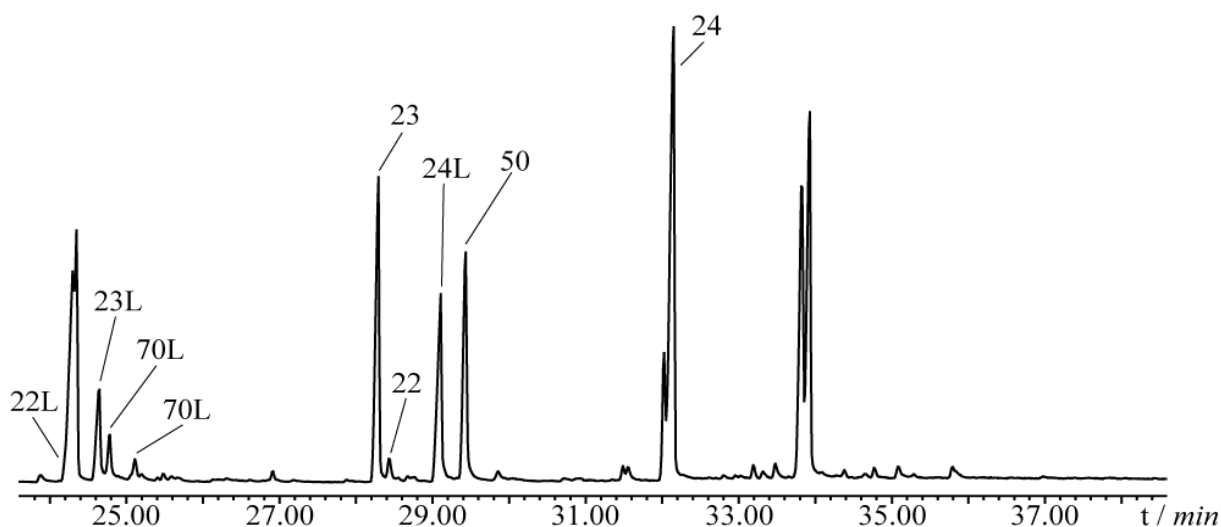
			H-5 6.41 – 6.28 m, 1 H	H-6 6.33 – 6.24 m, 1 H	H-7 5.62 – 5.52 m, 1 H	H-4 5.46 – 5.37 m, 1 H	H-1' 3.67 s, 3 H	H-3 2.53 – 2.46 m, 2 H	H-2 2.43 – 2.36 m, 2 H	H-8 1.75 dd, 3 H
H-5	6.41 – 6.28	m, 1 H		X		X				
H-6	6.33 – 6.24	m, 1 H	X		X					X
H-7	5.62 – 5.52	m, 1 H		X						X
H-4	5.46 – 5.37	m, 1 H	X					X		
H-1'	3.67	s, 3 H								
H-3	2.53 – 2.46	m, 2 H				X			X	
H-2	2.43 – 2.36	m, 2 H						X		
H-8	1.75	dd, 3 H		X	X					

## 9.2 Chirale Gaschromatographie

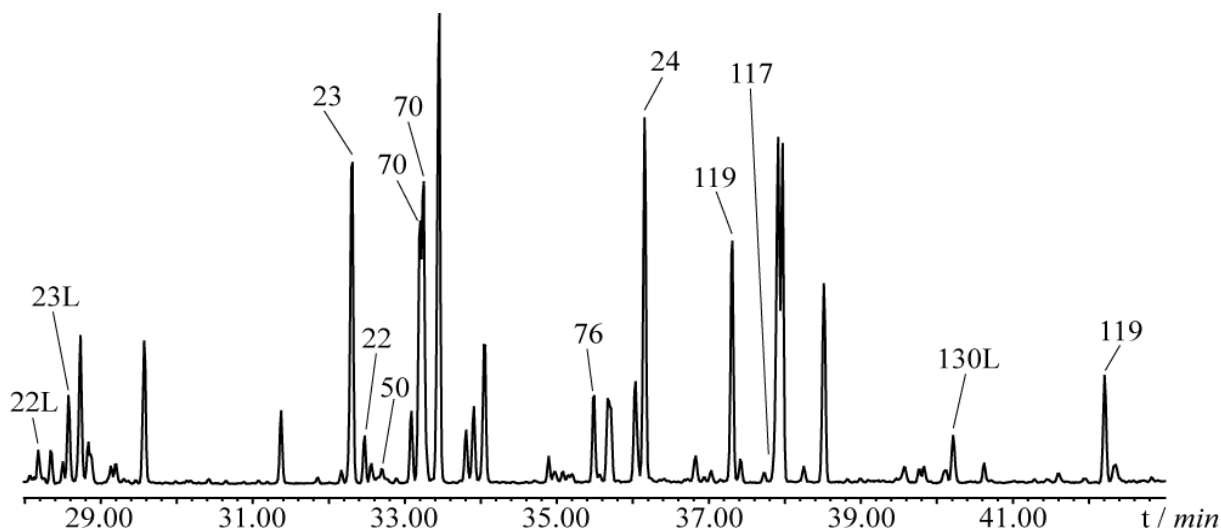
**Tabelle 9-3:** Experimentelle Bedingungen für die gaschromatographischen Trennungen der Enantiomere. Stationäre Phasen: H = Hydrodex-6-TBDMS (2,3-Di-*O*-methyl-6-*O*-TBDMS- $\beta$ -cyclodextrin, 35 m  $\times$  0.25 mm i.D., 0.25  $\mu$ m Filmdicke; *Macherey-Nagel*); K = König (2,6-Di-*O*-methyl-3-*O*-decanoyl- $\beta$ -cyclodextrin, 15 m  $\times$  0.32 mm i.D., 0.25  $\mu$ m Filmdicke; *König*); L = Lipodex G (2,3-Di-*O*-pentyl-6-*O*-methyl- $\gamma$ -cyclodextrin, 50m  $\times$  0.25mm i.D.; *Macherey-Nagel*).  $T_{Start}$  = Starttemperatur,  $t_{isotherm}$  = Dauer der isothermen Phase der Messung.

Verbindung	Säule	$T_{Start}$ / °C	$t_{isotherm}$ / min	Heizrate / °C min <sup>-1</sup>
2,6-Dimethylheptansäuremethylester	H	50	2	1
2,6-Dimethyl-5-heptensäuremethylester	H	50	2	1
3,7-Dimethyl-6-octensäuremethylester	K	65	2	0.1
4,8-Dimethyl-7-nonensäure	H	100	2	1
2,6,10-Trimethyl-9-undecensäure (C-2)	H	150	2	1
2,6,10-Trimethyl-9-undecensäuremethylester (C-6)	L	90	210	20
2,6,10-Trimethyl-5,9-undecadiensäuremethylester	K	110	2	0.1

### 9.3 DMDS-Derivatisierung der Fettsäuremethylester

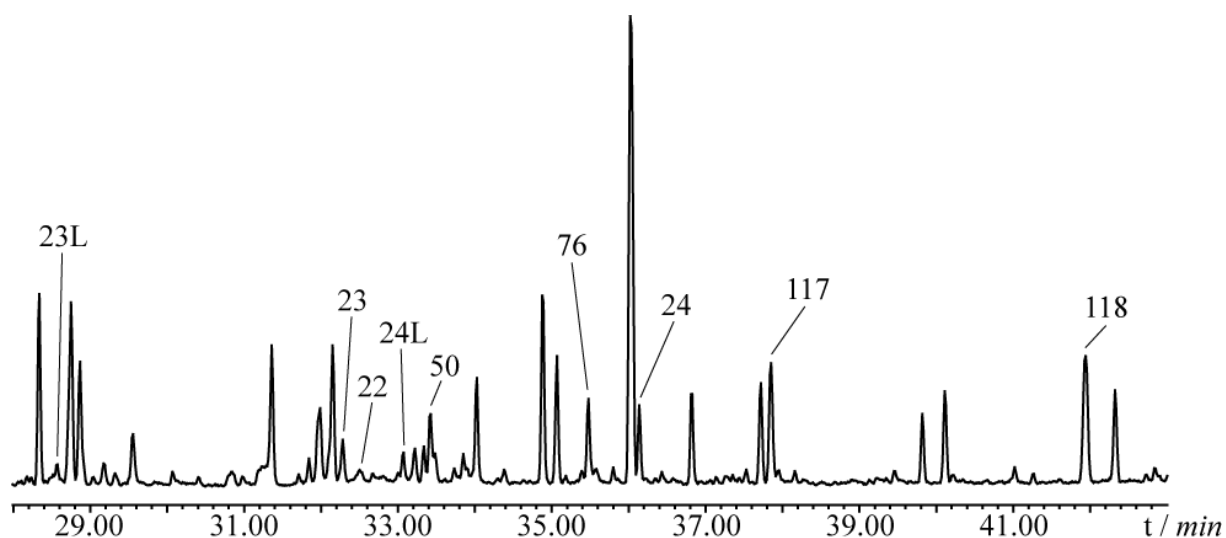


**Abb. 9-1:** Gaschromatogramm einer mit Natriummethanolat umgeesterten und danach mit DMDS derivatisierten Naturprobe (Probe 2) (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 3 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C). Die Zahlen beziehen sich auf die Nummerierung der Fettsäuren in **Abb. 6-1** und stehen jeweils für die DMDS-Addukte der entsprechenden Methylester. L = Lactonisiertes DMDS-Addukt.



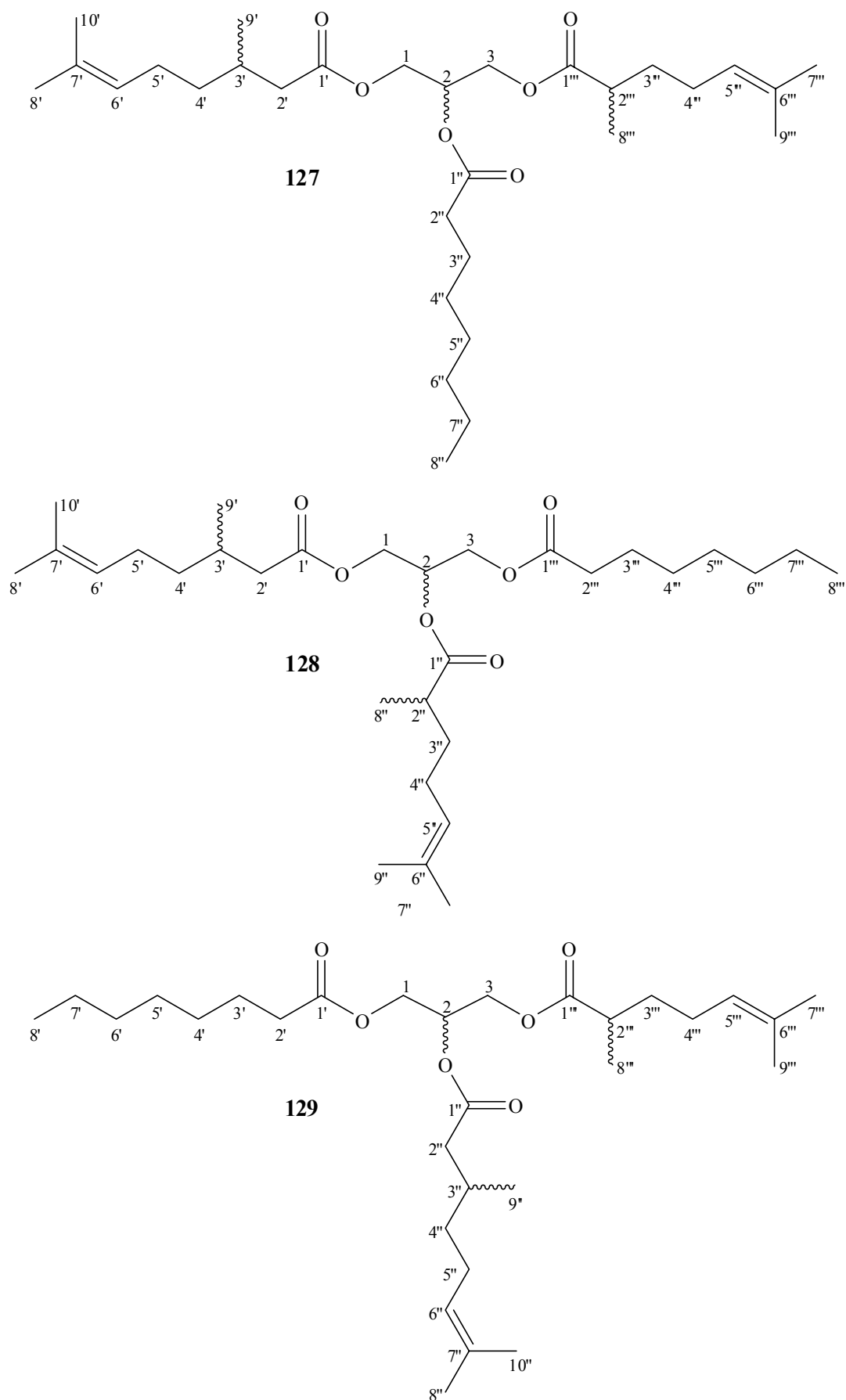
**Abb. 9-2:** Gaschromatogramm einer mit Natriummethanolat umgeesterten und danach mit DMDS derivatisierten Naturprobe (Probe 3) (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C). Die Zahlen beziehen sich auf die Nummerierung der Fettsäuren in **Abb. 6-1** und stehen jeweils für die DMDS-Addukte der entsprechenden Methylester. L = Lactonisiertes DMDS-Addukt.





**Abb. 9-3:** Gaschromatogramm einer mit Natriummethanolat umgeesterten und danach mit DMDS derivatisierten Naturprobe (Probe 4) (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C). Die Zahlen beziehen sich auf die Nummerierung der Fettsäuren in **Abb. 6-1** und stehen jeweils für die DMDS-Addukte der entsprechenden Methylester. L = Lactonisiertes DMDS-Addukt.

## 9.4 2D-NMR der Triacylglyceride 127, 128 und 129



**Tabelle 9-4:** Kopplungen der  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY- und  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC-Experimente von 3-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-2-octanoylglycerin (127).

Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$ ; chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

			H-2	H-1, H-3	H-1, H-3	H-2''	H-3''	H-4'', H-5'', H-6'', H-7''	H-8''
			5.30 – 5.25	4.35 – 4.28	4.18 – 4.11	2.31	1.63 – 1.59	1.37 – 1.17	0.88
			m, 1 H	m, 2 H	m, 2 H	t, 2 H	m, 8 H	m, 10 H	t, 3 H
H-2	5.30 – 5.25	m, 1 H		X	X				
H-1, H-3	4.35 – 4.28	m, 2 H	X		X				
H-1, H-3	4.18 – 4.11	m, 2 H	X	X					
H-2''	2.31	t, 2 H					X		
H-3''	1.63 – 1.59	m, 8 H				X		X	
H-4'', H-5'', H-6'', H-7''	1.37 – 1.17	m, 10 H					X		X
H-8''	0.88	t, 3 H						X	
C-1''	172.8	s	X			X	X		
C-2	68.9	d		X	X				
C-1, C-3	62.0	t	X	X	X				
C-2''	34.2	t					X		
C-6''	31.6	t						X	X
C-3''	24.8	t				X			
C-7''	22.6	t							X
C-8''	14.0	q						X	

**Tabelle 9-5:** Kopplungen der  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY- und  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC-Experimente von 2-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-1-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-3-octanoylglycerin (128).

Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$ ; chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

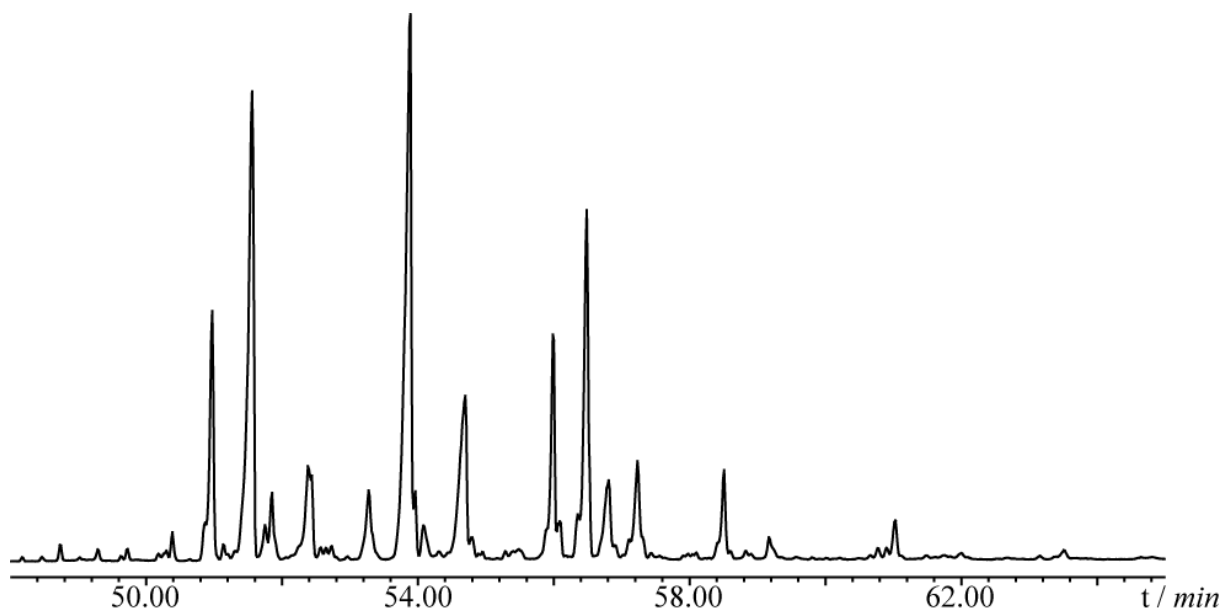
			H-2	H-5''	H-1, H-3	H-1, H-3	H-2''	H-4''	H-7''	H-9''	H-3''	H-8''
			5.30 – 5.25	5.09 – 5.05	4.34 – 4.28	4.18 – 4.12	2.51 – 2.42	1.75 – 1.68	1.68	1.59	1.46 – 1.19	1.15
			m, 1 H	m, 2 H	m, 2 H	m, 2 H	m, 1 H	m, 2 H	s, 6 H	s, 6 H	m, 10 H	d, 3 H
H-2	5.30 – 5.25	m, 1 H			X	X						
H-5''	5.09 – 5.05	m, 2 H						X	X	X		
H-1, H-3	4.34 – 4.28	m, 2 H	X			X						
H-1, H-3	4.18 – 4.12	m, 2 H	X		X							
H-2''	2.51 – 2.42	m, 1 H									X	X
H-4''	1.75 – 1.68	m, 2 H		X							X	
H-7''	1.68	s, 6 H		X								
H-9''	1.59	s, 6 H		X								
H-3''	1.46 – 1.19	m, 10 H					X	X				
H-8''	1.15	d, 3 H					X					
C-1''	175.8	s	X					X			X	X
C-6''	132.2	s							X	X		
C-5''	123.5	d						x	X	X	x	
C-2	68.8	d			X	X						
C-1, C-3	62.2	t	X									
C-1, C-3	62.1	t	X									
C-2''	39.03 / 39.02	d						X			X	X
C-3''	33.7 / 33.6	t					X					X
C-7''	25.7	q		X				X		X		
C-4''	25.6	t					X				X	
C-8''	16.98 / 16.96	q					X	X			X	

**Tabelle 9-6:** Kopplungen der  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY- und  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC-Experimente von 3-(2,6-Dimethyl-5-heptenoyl)-2-(3,7-dimethyl-6-octenoyl)-1-octanoylglycerin (129).

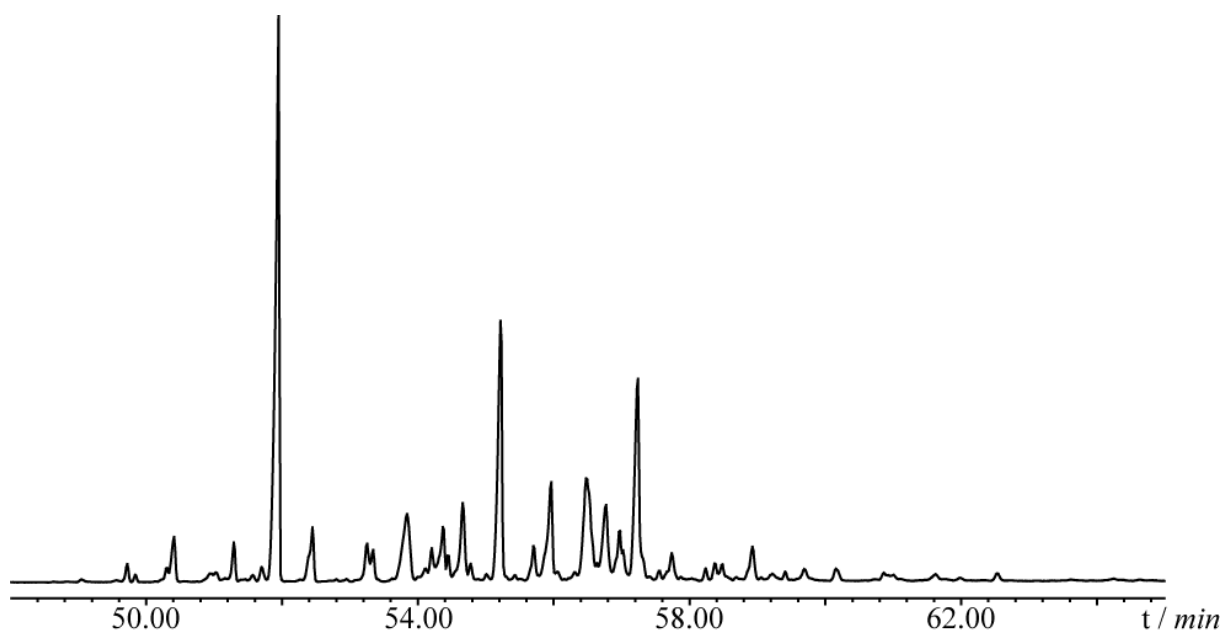
Lösungsmittel:  $\text{CDCl}_3$ ; chemische Verschiebungen  $\delta$  in ppm.

			H-2	H-6''	H-1, H-3	H-1, H-3	H-2''	H-2''	H-3'', H-5''	H-8''	H-10''	H-4''	H-9''
			5.31 – 5.26	5.10 – 5.05	4.34 – 4.27	4.18 – 4.11	2.37 – 2.29	2.16 – 2.10	2.03 – 1.93	1.75 – 1.66	1.63 – 1.59	1.47 – 1.18	0.95
			m, 1 H	m, 2 H	m, 2 H	m, 2 H	m, 1 H	m, 1 H	m, 3 H	m, 8 H	m, 8 H	m, 10 H	d, 3 H
H-2	5.31 – 5.26	m, 1 H			X	X							
H-6''	5.10 – 5.05	m, 2 H							X	X	X		
H-1, H-3	4.34 – 4.27	m, 2 H	X			X							
H-1, H-3	4.18 – 4.11	m, 2 H	X		X								
H-2''	2.37 – 2.29	m, 1 H							X				
H-2''	2.16 – 2.10	m, 1 H							X				
H-3'', H-5''	2.03 – 1.93	m, 3 H		X			X	X		X	X	X	X
H-8''	1.75 – 1.66	m, 8 H		X					X				
H-10''	1.63 – 1.59	m, 8 H		X					X				
H-4''	1.47 – 1.18	m, 10							X				
H-9''	0.95	d, 3 H							X				
C-1''	172.2	s	X				X	X					
C-7''	131.5	s							x	X	X		
C-6''	124.1	d							x	X	X		
C-2	68.9	d			X	X							
C-1, C-3	62.13	t	X		X	X							
C-1, C-3	62.08	t	X		X	X							
C-2''	41.6 / 41.5	t							x				X
C-4''	36.7	t					X	X					X
C-3''	30.0	d					X	X				x	X
C-8''	25.7	d									X		
C-5''	25.4	t										x	
C-9''	19.4	q					X	X				x	

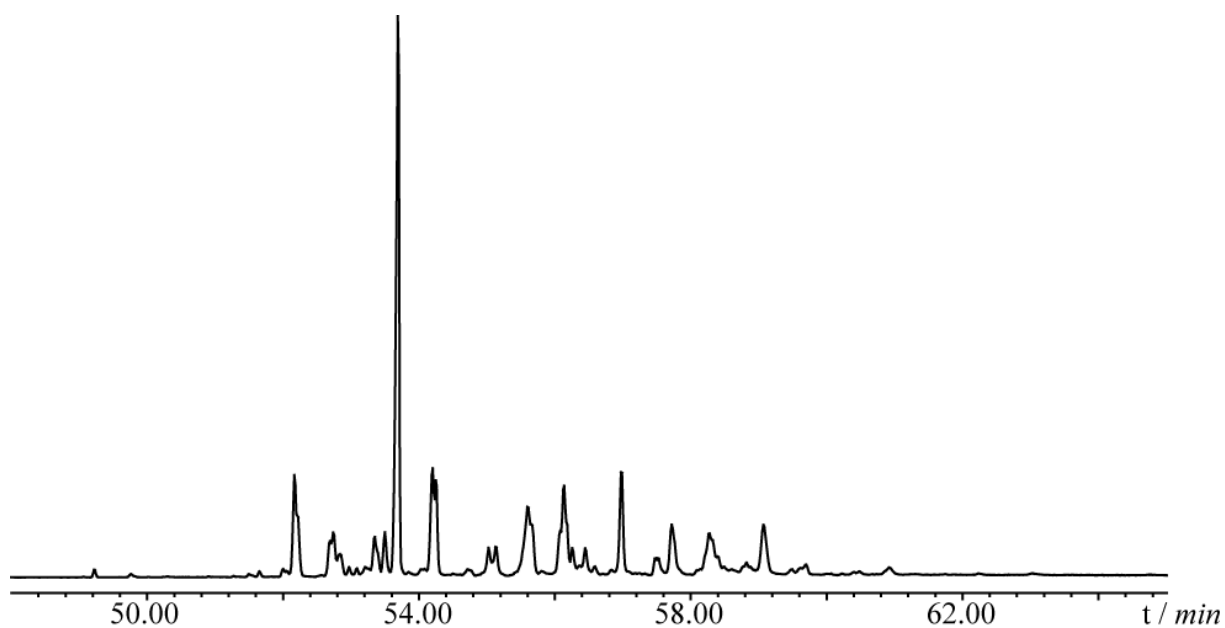
## 9.5 Gaschromatogramme der Naturproben



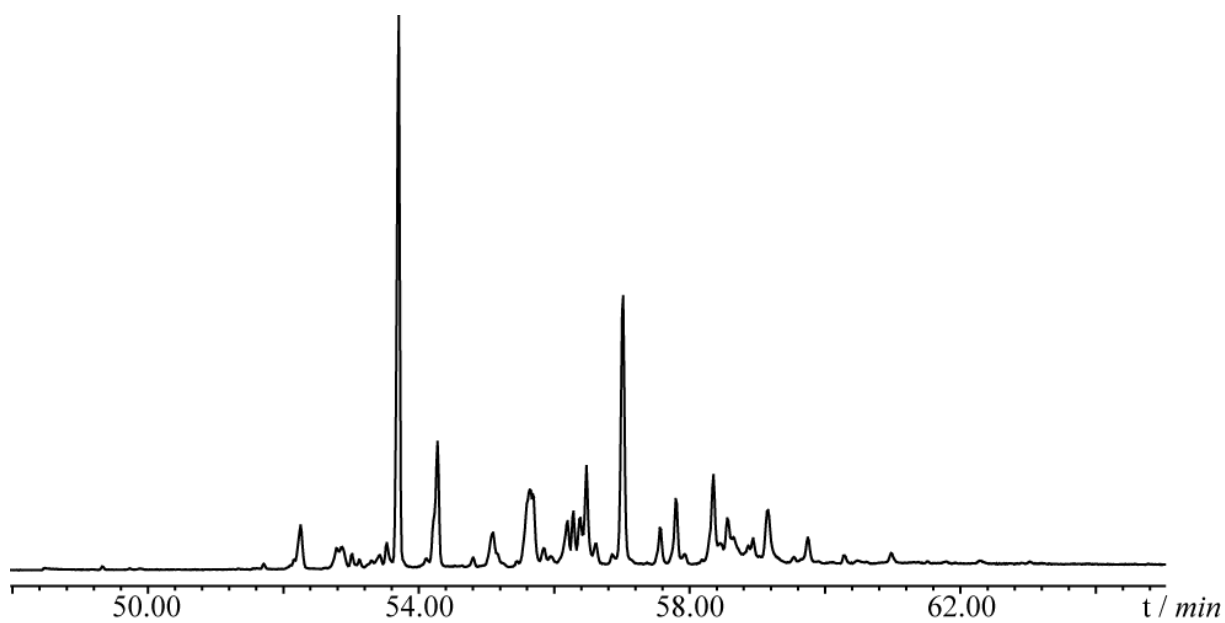
**Abb. 9-4:** Gaschromatogramm der Naturprobe 1 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



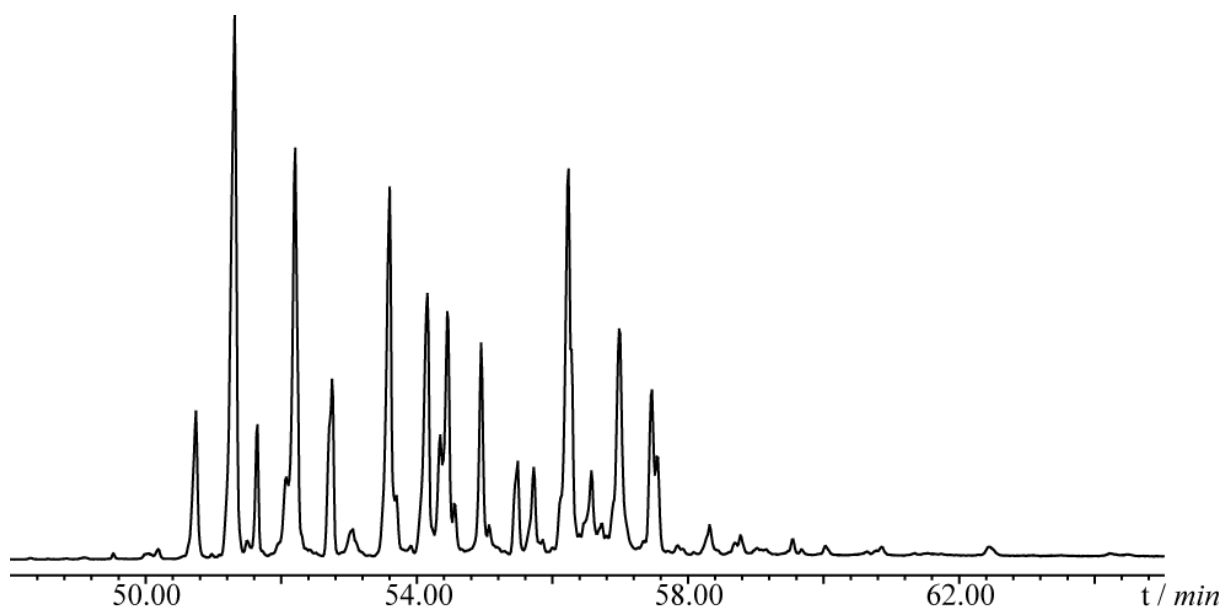
**Abb. 9-5:** Gaschromatogramm der Naturprobe 4 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



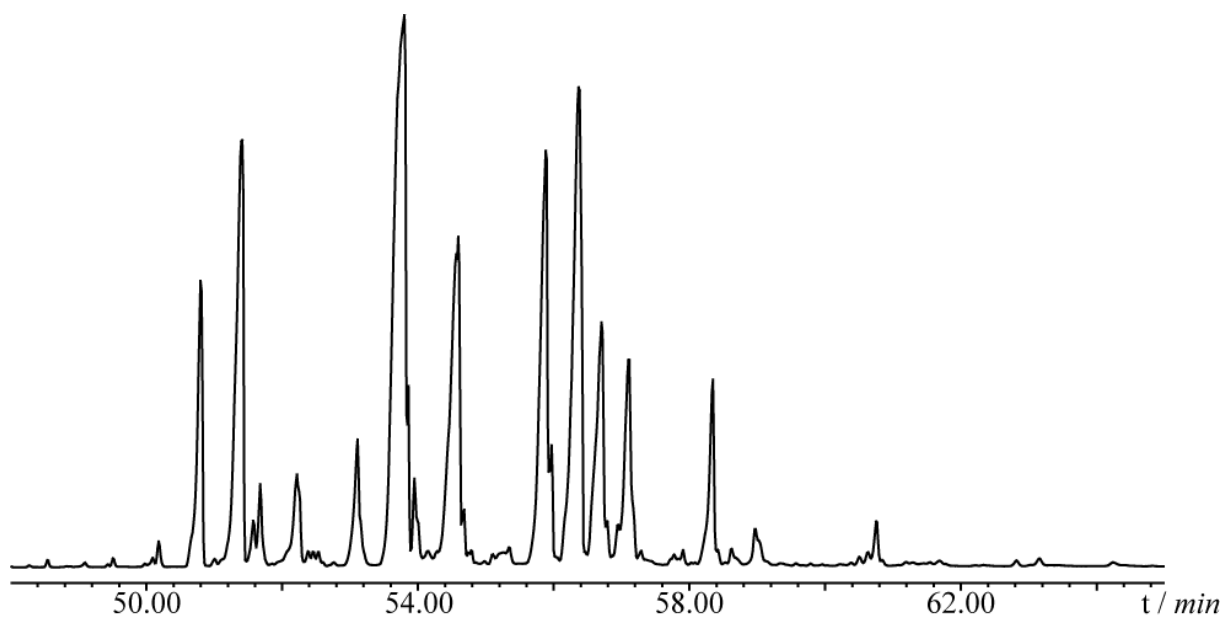
**Abb. 9-6:** Gaschromatogramm der Naturprobe 5 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



**Abb. 9-7:** Gaschromatogramm der Naturprobe 6 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).

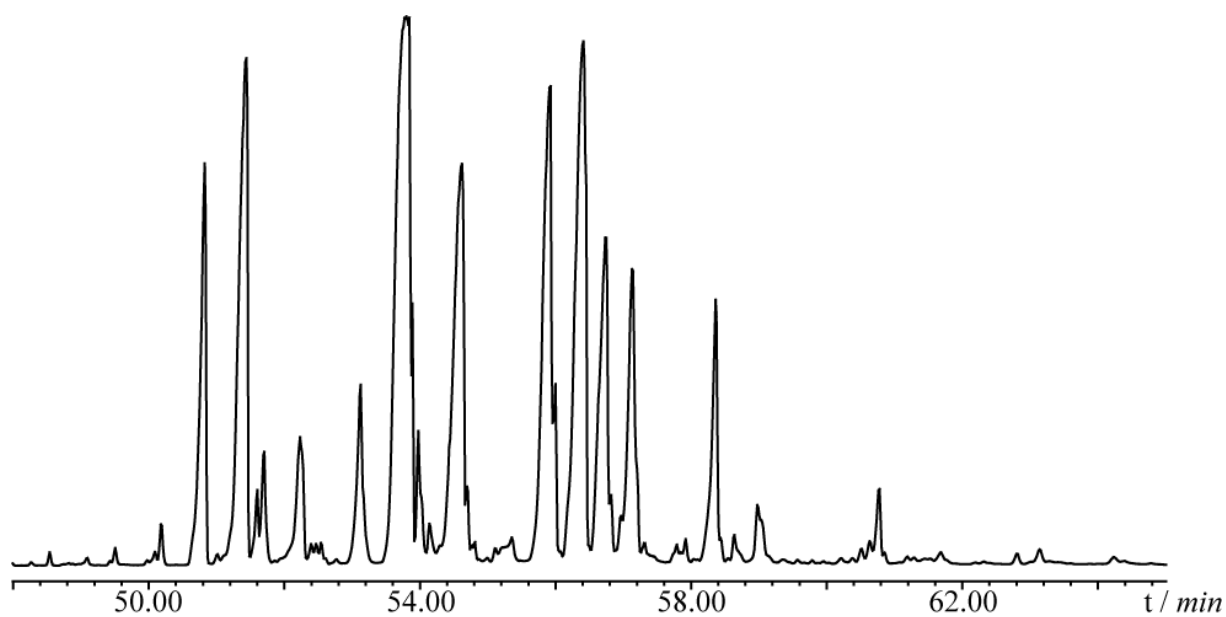


**Abb. 9-8:** Gaschromatogramm der Naturprobe 7 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).

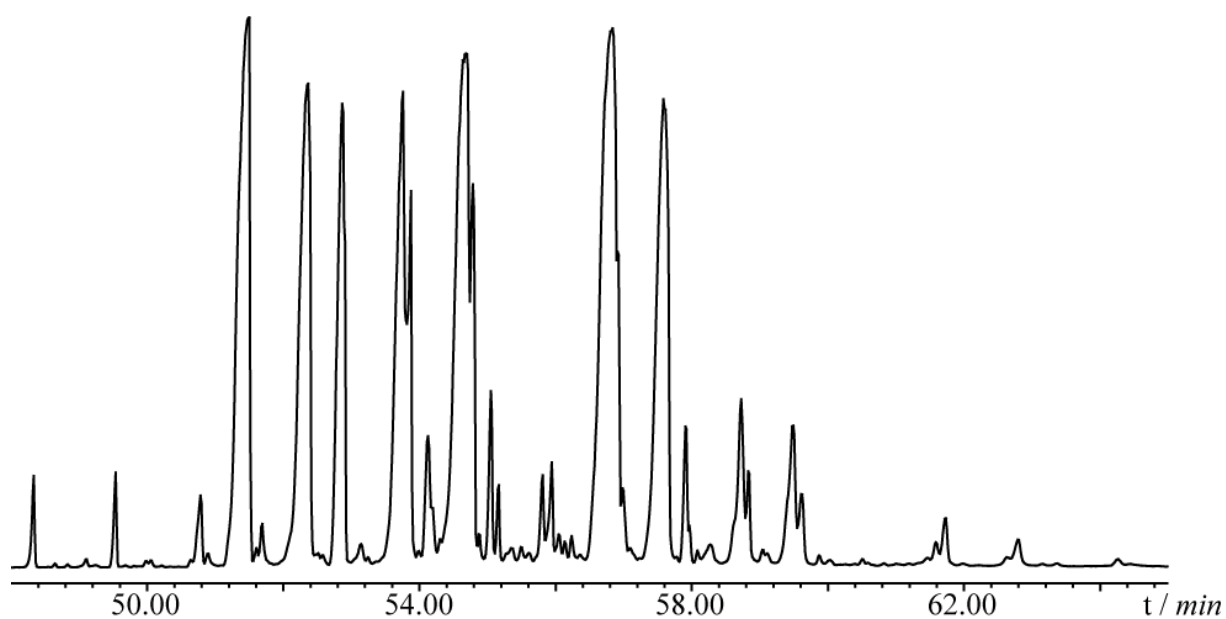


**Abb. 9-9:** Gaschromatogramm der Naturprobe 8 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).

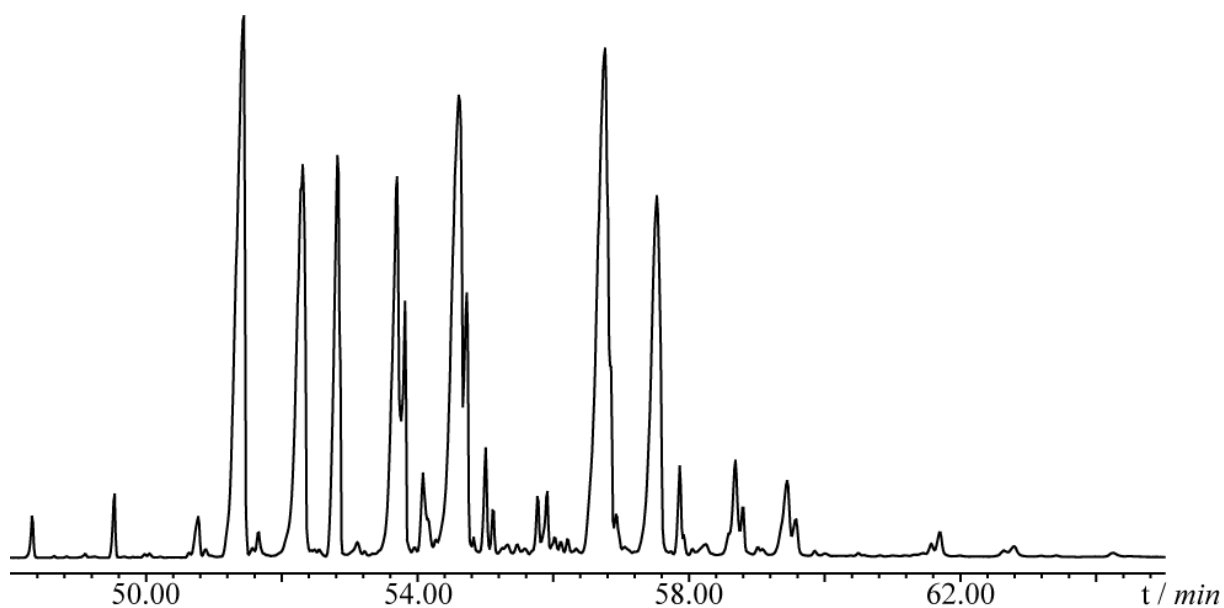




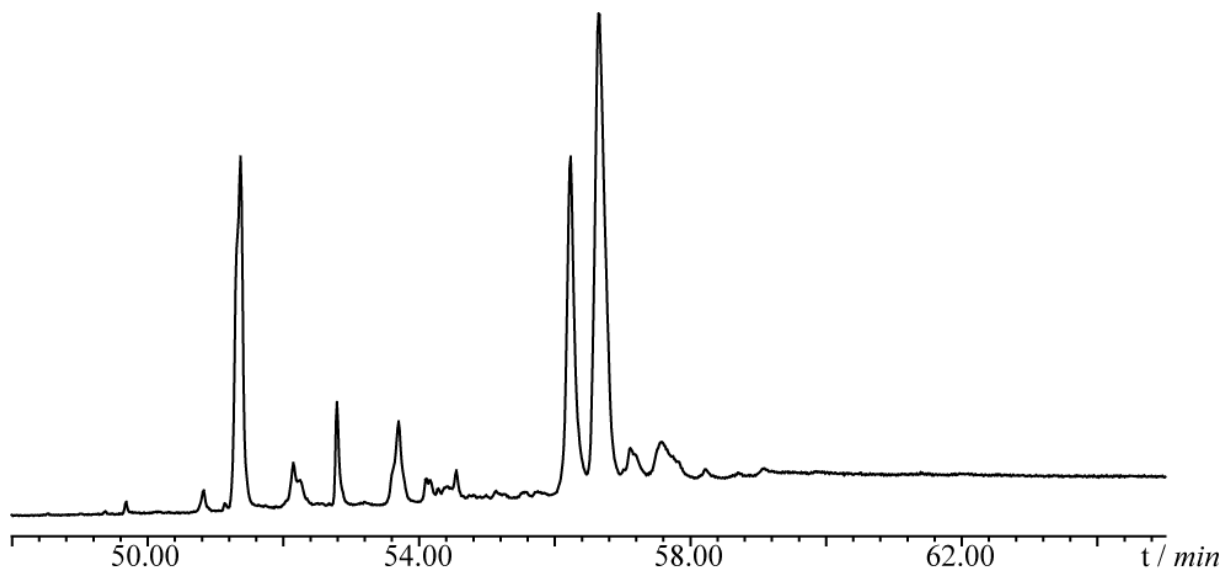
**Abb. 9-10:** Gaschromatogramm der Naturprobe 9 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



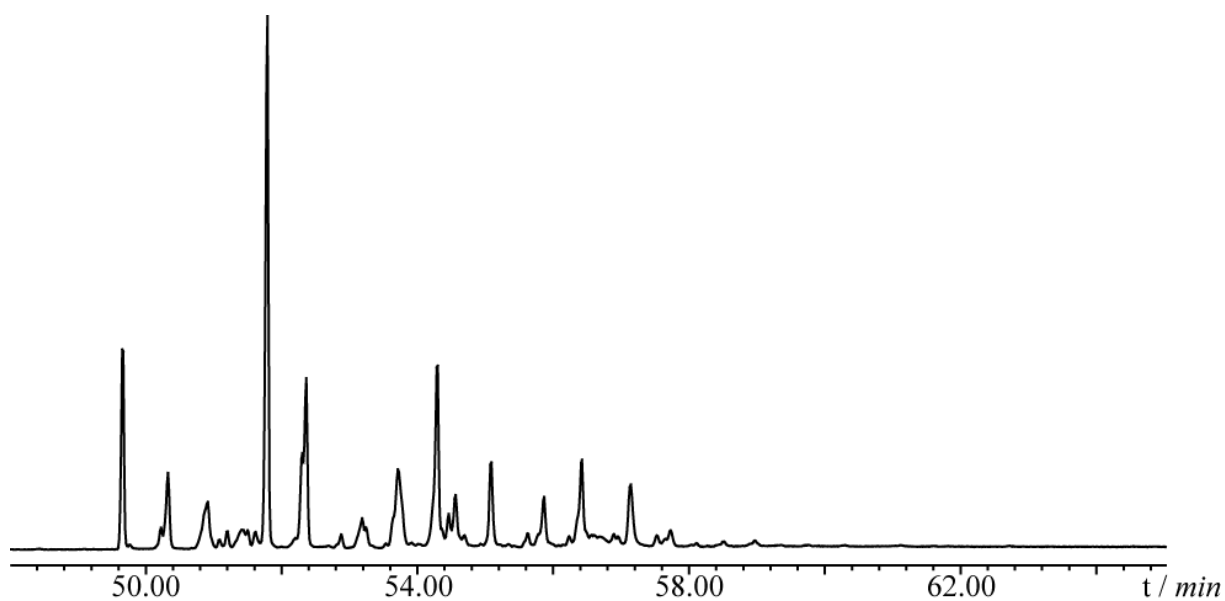
**Abb. 9-11:** Gaschromatogramm der Naturprobe 10 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



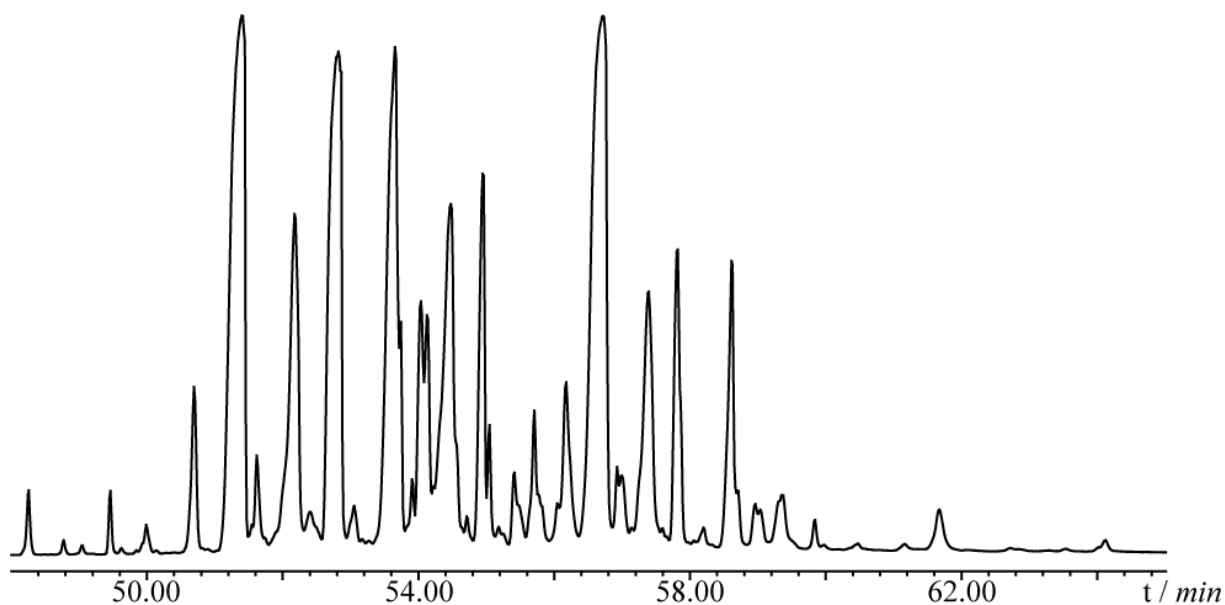
**Abb. 9-12:** Gaschromatogramm der Naturprobe 11 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



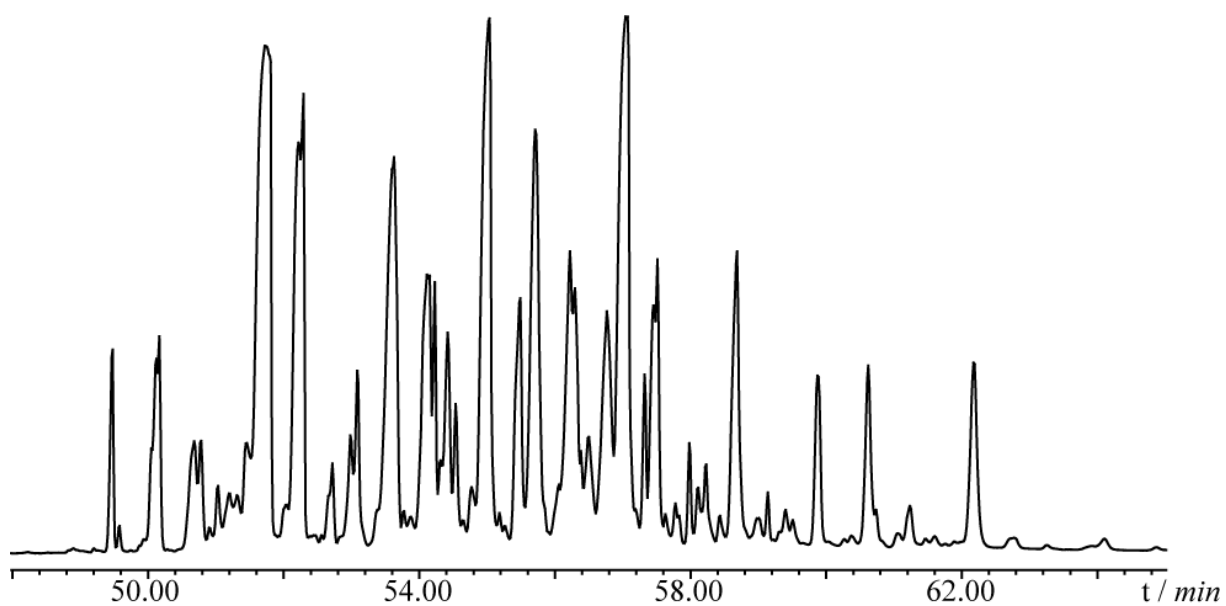
**Abb. 9-13:** Gaschromatogramm der Naturprobe 13 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



**Abb. 9-14:** Gaschromatogramm der Naturprobe 14 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



**Abb. 9-15:** Gaschromatogramm der Naturprobe 15 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).



**Abb. 9-16:** Gaschromatogramm der Naturprobe 16 (unpolare Phase (BPX-5); Heizprogramm: 50 °C, 5 Minuten isotherm, dann 5 °C/Min. bis 320 °C).

## **Danksagung**

Für die Überlassung des Themas, die freundliche Unterstützung und zahlreiche Anregungen möchte ich mich bei Prof. Dr. S. Schulz herzlich bedanken.

Prof. Dr. T. Lindel danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Dr. P. J. Weldon danke ich für die Bereitstellung der Cloacaldrüsensekretproben.

Meinen aktuellen und ehemaligen Kolleginnen und Kollegen Elena Barcari, Insa Bergmann, Dr. Katalin Böröczky, Dr. Gregor Brasse, Satya Chinta, Dr. Jeroen Dickschat, Dr. Stephan Goller, Christopher Häberlein, Antje Hagemann, Julia Kiefer, Dr. Nico Klewer, Dr. Karsten Krückert, Julia Meyer, Jasmin Müller, Dr. Edyta Nagrodzka, Thorben Nawrath, Alexander Neumann, Dennis Poth, Dr. Paul Schlüter, Andreas Schmidt, Thies Schulze, Subhash Kumar Surapaneni, Verena Thiel und Dr. Selma Yildizhan danke ich für die stete Hilfs- und Diskussionsbereitschaft und für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre.

Des Weiteren danke ich den Mitarbeitern der Massenspektrometrie- und der NMR-Abteilung sowie den technischen Mitarbeitern des Instituts.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinem Mann Johannes Flachsbarth, für die Unterstützung während meines gesamten Studiums und für die Geduld und hilfreichen Ratschläge in den letzten Monaten.



## Lebenslauf

### Persönliches

Geburtsdatum: 30.01.1978  
Geburtsort: Braunschweig  
Familienstand: verheiratet

### Studium

01.04.2004 – 13.08.2009 Promotion in Organischer Chemie: „Synthese und Identifizierung von Inhaltsstoffen aus dem Cloacaldrüsensekret der Brückenechse“ im Arbeitskreis von Prof. Dr. Stefan Schulz  
15.07.2003 – 31.03.2004 Diplomarbeit in Organischer Chemie: „Synthese und Identifizierung von Fettsäuren aus dem Paracloacaldrüsensekret der Brückenechse“ im Arbeitskreis von Prof. Dr. Stefan Schulz  
01.10.1997 – 31.03.2004 Studium der Chemie an der Technischen Universität Braunschweig

### Schulausbildung

09.06.1997 Allgemeine Hochschulreife  
August 1990 – Juni 1997 Wilhelm-Gymnasium, Braunschweig  
August 1989 – Juli 1990 Orientierungsstraße Leonhardstraße, Braunschweig  
August 1988 – Juli 1989 Orientierungsstufe Georg-Eckert-Straße, Braunschweig  
August 1984 – Juni 1988 Grundschule Büldenweg, Braunschweig

### Veröffentlichungen

K. Krückert, B. Flachsbarth, S. Schulz, U. Hentschel, P. J. Weldon, Ethyl-Branched Aldehydes, Ketones, and Diketones from Caimans (*Caiman* and *Paleosuchus*; Crocodylia, Reptilia), *J. Nat. Prod.* **2006**, 69, 863 – 870.